

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
 US Department of Commerce
 United States Patent and Trademark
 Office, PCT
 2011 South Clark Place Room
 CP2/5C24
 Arlington, VA 22202
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE
 in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 01 June 2001 (01.06.01)	Applicant's or agent's file reference 199va01.wo
International application No. PCT/EP00/08833	Priority date (day/month/year) 17 September 1999 (17.09.99)
International filing date (day/month/year) 11 September 2000 (11.09.00)	
Applicant PFLEIDERER, Wolfgang et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
10 March 2001 (10.03.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Odile ALIU
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

P. TENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

VIERING, JENTSCHURA & PARTNER
Postfach 22 14 43
80504 München
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 01 November 2001 (01.11.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 199va01.wo	
International application No. PCT/EP00/08833	International filing date (day/month/year) 11 September 2000 (11.09.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

☐ the applicant ☐ the inventor ☒ the agent ☐ the common representative

Name and Address

ACKERMANN, Joachim
Postfach 11 13 26
60048 Frankfurt am Main
Germany

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

49-(0)69 92033 801

Facsimile No.

49-(0)69 92033_7

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

VIERING, JENTSCHURA & PARTNER
Postfach 22 14 43
80504 München
Germany

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

089/210 6970

Facsimile No.

089/210 69757

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority ☒ the elected Offices concerned
☒ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:
The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Céline Faust

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

7

Applicant's or agent's file reference 199va01.wo	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/08833	International filing date (day/month/year) 11 September 2000 (11.09.00)	Priority date (day/month/year) 17 September 1999 (17.09.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D 475/08		
Applicant VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.
- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 10 March 2001 (10.03.01)	Date of completion of this report 16 October 2001 (16.10.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-28, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1-12, filed with the letter of 18 September 2001 (18.09.2001),
Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations**1. The following documents are referred to:**

D1: EP-A-0 906 913 (WERNER ERNST) 7 April 1999
(1999-04-07)

D2: WO-A-94/14780 (WELLCOME FOUND; BIGHAM ERIC
CLEVELAND (US); REINHARD JOHN FREDERIC) 7 July
1994 (1994-07-07) (mentioned in the
application)

D3: DE-A-44 18 097 (CASSELLA AG) 30 November 1995
(1995-11-30) & EP-A-0 760 818 12 March 1997
(1997-03-12) (mentioned in the application)

D4: DE-A-44 18 096 (CASSELLA AG) 30 November 1995
(1995-11-30) & EP-A-0 760 664 12 March 1997
(1997-03-12) (mentioned in the application)

D5: DE-A-41 20 247 (HENKEL KGAA) 24 December 1992
(1992-12-24)

2. Novelty

D1-D4 disclose pteridine derivatives as nitrogen(I) oxide synthase inhibitors which differ from the compounds in the present application in the definition of the substituent in the 4-position of the pteridine skeleton. The subject matter of Claims 1-11 is therefore considered **novel** within the meaning of PCT Article 33(2).

D5 discloses tetraminopyrimidine derivatives which carry substituents on the amino group in the 4-position of pyrimidine other than those in the compounds of the general formula (V) described in Claim 12 of the present application. In light of D5 the subject matter of Claim 12 is novel.

3. Inventive step

The problem addressed by the invention consists in preparing specific pteridine derivatives which act to inhibit the various isoforms of nitrogen(I) oxide synthetase in different ways

D4, which is considered to represent the closest prior art, discloses pteridine derivatives of the general formula (I) which inhibit nitrogen(I) oxide synthetase (see page 11, table). D4 does not disclose possible selectivity exhibited by these compounds towards various isoforms of NO synthetase. The derivatives mentioned differ from the subject matter of Claim 1 of the present application in that, whereas the prior art compounds (D4) carry =O, =NH or =NHCO alkyl groups in the 4-position of the pteridine skeleton (Claim 1), in the compounds claimed in the present application a mono- or disubstituted amino group is bound to carbon in the 4-position.

The solution of the above-indicated problem consists in preparation of the compounds defined in Claim 1 by the general formula (I). To solve the problem, novel substituents were introduced on to the amino group in the 4-position. The pharmacological data are given in Tables 1 and 2. The data in Table 2 show that, with respect to inhibitory activity, the substances exhibited increased selectivity towards NOS-I compared with NOS-II and

NOS-III. Since the prior art lacks any teaching that would induce a person skilled in the art to modify or adapt the closest prior art to yield subject matter that would coincide with the present claims, the subject matter of the present application is considered **to involve an inventive step**. The process for preparing the above-indicated compounds (Claim 11) and the intermediates of the formula (V) used to prepare the target compound (Claim 12) are likewise acknowledged **to involve an inventive step**.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/08833

VI. Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

Application No. Patent No.	Publication date (day/month/year)	Filing date (day/month/year)	Priority date (valid claim) (day/month/year)
-------------------------------	--------------------------------------	---------------------------------	---

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

Kind of non-written disclosure	Date of non-written disclosure (day/month/year)	Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)
--------------------------------	--	---

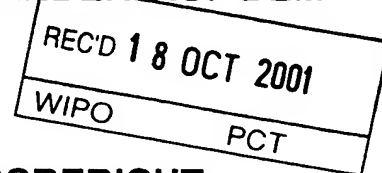
See annex

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESSENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)





Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 199va01.wo	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/08833	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 11/09/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 17/09/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07D475/08		
Anmelder VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
 - ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 10/03/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 16.10.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Guspanova, J Tel. Nr. +49 89 2399 7834 

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-28 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-12 eingegangen am 18/09/2001 mit Schreiben vom 14/09/2001

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	

- 2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt**

VI. Bestimmte angeführte Unterlagen

- 1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)**

und / oder

- 2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)**

siehe Beiblatt

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: EP-A-0 906 913 (WERNER ERNST) 7. April 1999 (1999-04-07)
- D2: WO 94 14780 A (WELLCOME FOUND ;BIGHAM ERIC CLEVELAND (US); REINHARD JOHN FREDERIC) 7. Juli 1994 (1994-07-07) in der Anmeldung erwähnt
- D3: DE 44 18 097 A (CASSELLA AG) 30. November 1995 (1995-11-30) & EP 0 760 818 A 12. März 1997 (1997-03-12) in der Anmeldung erwähnt
- D4: DE 44 18 096 A (CASSELLA AG) 30. November 1995 (1995-11-30) & EP 0 760 664 A 12. März 1997 (1997-03-12) in der Anmeldung erwähnt
- D5: DE 41 20 247 A (HENKEL KGAA) 24. Dezember 1992 (1992-12-24)

2. Neuheit

Die Dokumente **D1-D4** offenbaren Pteridin-Derivate als Hemmstoffe der Stickstoffmonoxid-Synthase, die sich von den Verbindungen der vorliegenden Anmeldung in der Definition des Substituenten in Position 4 des Pteridin-Gerüsts unterscheiden. Der Gegenstand der Ansprüche 1-11 wird deshalb als **neu** betrachtet, im Sinne von Artikel 33 (2) PCT.

Das Dokument **D5** offenbart Tetraaminopyrimidin-Derivate, die an der Amino-Gruppe in der Position 4 des Pyrimidins andere Substituenten tragen als die Verbindungen der allgemeinen Formel (V) im Anspruch 12 der vorliegenden Anmeldung. Im Lichte des Standes der Technik **D5** ist der Gegenstand des Anspruchs 12 **neu**.

3. Erfinderische Tätigkeit

Die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe war es, bestimmte Pteridin-Derivate herzustellen, die die verschiedenen Isoformen der Stickstoffmonoxid-Synthetase in unterschiedlicher Weise hemmen können.

Das Dokument **D4**, das als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel (I), die fähig sind die

Stickstoffmonoxid-Synthase zu hemmen (siehe Tabelle auf der Seite 11). Eine mögliche Selektivität dieser Verbindungen gegen verschiedenen Isoformen von NO-Synthetase ist in **D4** nicht offenbart. Die erwähnten Derivate unterscheiden sich von dem Gegenstand des vorliegenden Anspruchs 1 durch folgendes Merkmal. Die Verbindungen von **D4** tragen =O, =NH oder =NHCOAlkyl Gruppen in der Position 4 des Pteridin-Gerüsts (Anspruch 1), während in den Verbindungen der vorliegenden Anmeldung eine mono- oder disubstituierte Amino-Gruppe an den Kohlenstoff in der Position 4 gebunden ist.

Die Lösung der obengenannten Aufgabe beruht in der Herstellung von Verbindungen, die durch allgemeine Formel (I) im Anspruch 1 definiert sind. Einführung von neuen Substituenten an die Amino-Gruppe in der Position 4 wurde für das Lösen der Aufgabe vorgenommen. Die pharmakologische Daten sind in den Tabellen 1 und 2 angegeben. Die Daten in der Tabelle 2 zeigen, dass die Substanzen für die Hemmung von NOS-I eine erhöhte Selektivität gegenüber NOS-II und NOS-III aufweisen. Da sich keine Lehre im Stand der Technik findet, die den Fachmann veranlassen würde, den nächstliegenden Stand der Technik zu ändern oder anzupassen, um zu etwas gelangen, was unter die vorliegende Patentansprüche fällt, wird der Gegenstand der vorliegenden Anmeldung als **auf einer erfinderischer Tätigkeit beruhend** betrachtet. Das Verfahren zur Herstellung von obengenannten Verbindungen (Anspruch 11) und die auf Zielverbindung gerichtete Zwischenprodukte der Formel (V) (Anspruch 12) werden ebenfalls als **erfinderisch** anerkannt.

Zu Punkt VI

Bestimmte angeführte Unterlagen

Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

Anmelde Nr. Patent Nr.	Veröffentlichungsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Prioritätsdatum (zu Recht beansprucht) (Tag/Monat/Jahr)
WO 00 39129 A	2000-07-06	28.12.99	28.12.98

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AM DEM GEBIET DES PATENTWESSENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 199va01.wo	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/08833	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 11/09/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 17/09/1999
Anmelder VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3. ☐ **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. ----



wie vom Anmelder vorgeschlagen



keine der Abb.



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07D475/08 A61K31/519 A61P9/00 C07D239/50

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	EP 0 906 913 A (WERNER ERNST) 7. April 1999 (1999-04-07) das ganze Dokument ---	1-12
Y	WO 94 14780 A (WELLCOME FOUND ;BIGHAM ERIC CLEVELAND (US); REINHARD JOHN FREDERIC) 7. Juli 1994 (1994-07-07) in der Anmeldung erwähnt Seite 22 -Seite 29; Ansprüche ---	1-12
A	DE 44 18 097 A (CASSELLA AG) 30. November 1995 (1995-11-30) das ganze Dokument & EP 0 760 818 A 12. März 1997 (1997-03-12) in der Anmeldung erwähnt --- -/--	1-12



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

A Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12. Januar 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

23/01/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Chouly, J

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 44 18 096 A (CASSELLA AG) 30. November 1995 (1995-11-30) das ganze Dokument & EP 0 760 664 A 12. März 1997 (1997-03-12) in der Anmeldung erwähnt ----	1-12
X	DE 41 20 247 A (HENKEL KGAA) 24. Dezember 1992 (1992-12-24) das ganze Dokument ----	12
P,X	WO 00 39129 A (WAER MARK JOSEPH ALBERT ;HERDEWIJN PIET ANDRE MAURITS M (BE); LEUV) 6. Juli 2000 (2000-07-06) das ganze Dokument -----	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

EP 00/08833

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0906913	A	07-04-1999	NONE	
WO 9414780	A	07-07-1994	AU 5704594 A	19-07-1994
			EP 0674627 A	04-10-1995
			JP 8504798 T	21-05-1996
			MX 9308199 A	31-01-1995
			US 5459158 A	17-10-1995
			ZA 9309480 A	19-06-1995
DE 4418097	A	30-11-1995	CA 2188267 A	30-11-1995
			WO 9532203 A	30-11-1995
			EP 0760818 A	12-03-1997
			JP 10500417 T	13-01-1998
DE 4418096	A	30-11-1995	WO 9531987 A	30-11-1995
			EP 0760664 A	12-03-1997
			JP 10504023 T	14-04-1998
			US 5902810 A	11-05-1999
DE 4120247	A	24-12-1992	NONE	
WO 0039129	A	06-07-2000	AU 3042900 A	31-07-2000

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
29. März 2001 (29.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/21619 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07D 475/08,
A61K 31/519, A61P 9/00, C07D 239/50

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/08833

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. September 2000 (11.09.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 44 767.5 17. September 1999 (17.09.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG
[DE/DE]; Sedanstrasse 27, 97082 Würzburg (DE).

(72) Erfinder; und

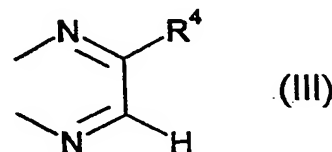
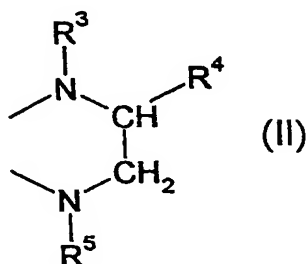
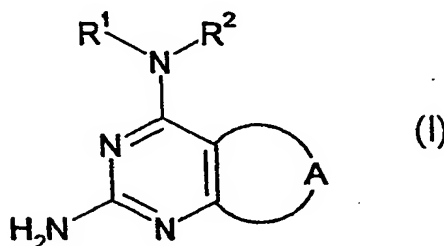
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PFLEIDERER, Wolf-
gang [DE/DE]; Lindauer Strasse 47, 78464 Konstanz
(DE). SCHMIDT, Harald [DE/DE]; Langes Gräthlein 26,
97078 Würzburg (DE). FRÖHLICH, Lothar [DE/DE];
Amalienstrasse 5, 97072 Würzburg (DE). KOTSONIS,
Peter [DE/DE]; Sandweg 1, 97078 Würzburg (DE).
TAGHAVI-MOGHADAM, Shahriyar [IR/DE]; Schot-
tenstrasse 71, 78462 Konstanz (DE).

(74) Anwalt: ACKERMANN, Joachim; Postfach 11 13 26,
60048 Frankfurt am Main (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: N-SUBSTITUTED 4-AMINOPTERIDINES, SYNTHESIS AND USE THEREOF AS PHARMACEUTICAL AGENT

(54) Bezeichnung: N-SUBSTITUIERTE 4-AMINOPTERIDINE, VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG UND IHRE VER-
WENDUNG ALS ARZNEIMITTEL



(57) Abstract: Compounds of formula (I), where preferably: A = a bridge of partial formula (II) or (III), R¹ and R² = independently (substituted) alkyl, aryl or aralkyl, or together form a heterocycle, R³ = H, -CO-Alkyl, or -CO-Aryl, R⁴ = Aryl, -CO-O-Aryl or -CO-Aryl and R⁵ = H, are potent inhibitors of NO-synthase and are suitable as pharmaceutical agents for prophylaxis and treatment of disease states associated with a disturbed NO metabolism.

(57) Zusammenfassung: Verbindungen der Formel (I) in der bevorzugt A für eine Verbrückung der Form (II) ODER (III) steht, R¹ und R² unabhängig voneinander (substituiertes) Alkyl, Aryl oder Aralkyl oder zusammen einen Heterozyklus bilden, R³ für Wasserstoff, -CO-Alkyl, oder -CO-Aryl, R⁴ Aryl, -CO-O-Aryl oder -CO-Aryl und R⁵

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen.

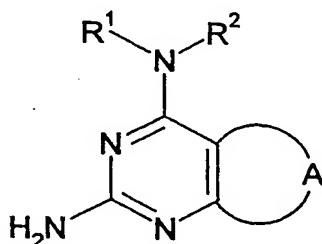
(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

- 5 N-substituierte 4-Aminopteridine, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Arzneimittel

Beschreibung

- 10 Die vorliegende Erfindung betrifft N-substituierte 4-Aminopteridine der nachstehenden allgemeinen Formel, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten deren Ursache ein gestörter Stickstoffmonoxid-Haushalt ist.



15

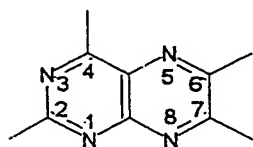
- Stickstoffmonoxid (NO) ist ein ubiquitärer Träger physiologischer und pathophysiologischer Funktionen (S. Moncada et al. *Pharmacol. Rev.* 43 (1991), 109-142). Es wirkt relaxierend auf die glatte Gefäßmuskulatur und ist auf diese Weise maßgeblich an der Regulation des Blutdrucks und der Proliferation von Gefäßwandzellen beteiligt; es steuert über eine Hemmung der Thrombocytenaggregation die Blutgerinnung und ist im Gehirn und Rückenmark als Neuromodulator involviert. In den NANC-Nerven des peripheren Nervensystems fungiert NO ebenfalls als Botenstoff. Die zelltoxische Wirkung des NO wird von Macrophagen und einer Vielzahl anderer Zellen für die Infektionsabwehr genutzt, spielt aber auch eine Rolle in der Entzündungsreaktion und Autoimmunreaktion.
- 20
- 25

- Endogenes NO wird mit Hilfe dreier verschiedener NO-Synthase-Isoenzyme aus Arginin gebildet (Kershaw, *Ann. Rep. Med. Chem.* 27 (1992) 69). Alle Isoenzyme benötigen NADPH, Flavinadeninucleotid, Flavinmononucleotid und Tetrahydrobiopterin als Cofaktoren. Sie unterscheiden sich bezüglich ihrer Lokalisation im Organismus, ihrer
- 30

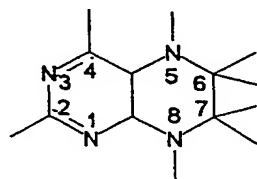
Regulierbarkeit durch Ca^{2+} /Calmodulin sowie ihrer Induzierbarkeit durch Endotoxine und Cytokine. Die konstitutiven, calciumabhängigen NO-Synthasen finden sich beispielsweise im Endothel (Typ III) und im Gehirn (Typ I) und sind dort in die Regulation von Blutdruck- und Gerinnung bzw. in Reizleitungsprozesse involviert. Die zytokin - induzierbare, calciumunabhängige Isoform (Typ II) tritt in Macrophagen, Glattmuskelzellen und Hepatocyten auf. Sie ist in der Lage über einen langen Zeitraum relativ große Mengen NO zu produzieren und wird für entzündliche und Autoimmun-Prozesse und die zelltoxische Aktivität der Macrophagen verantwortlich gemacht.

Ein gestörter NO-Haushalt hat schwerwiegende Erkrankungen und Schädigungen zur Folge. So führt die exzessive Bildung von NO im septischen oder hämorrhagischen Schock zu massiven pathologischen Blutdruckabfällen. Übersteigerte NO-Produktion ist z.B. an der Entstehung von Autoimmunerkrankungen, wie Typ-1-Diabetes sowie von Atherosklerose beteiligt und mitverantwortlich für die Glutamat-induzierte Neurotoxizität nach cerebraler Ischämie. Hohe NO-Konzentrationen können darüber hinaus durch Desaminierung von Cytosin zu DNA-Schädigungen und Krebs führen. Eine selektive Hemmung der an den jeweiligen Krankheitsbildern beteiligten NO-Synthasen eignet sich deshalb zur Behandlung und Vorbeugung der genannten Krankheiten.

Nur wenige Vertreter N-substituierter 4-Aminopterine sind bisher in der chemischen Literatur bekannt. Alle diese Vertreter enthalten entweder einen von Wasserstoff verschiedenen Substituenten in der 7-Position des Pterin-Gerüsts oder einen der Folsäure analogen Aminobenzoylglutamat-Rest in der 6-Position des Pterin-Gerüsts (siehe nachfolgende Formeln (a) und (b) bezüglich Pterin-Gerüst).



(a)



(b)

Über die pharmakologische Wirkung N-substituierter 4-Aminopterine existiert nur äußerst wenig Information: Dewey et al. (Biochem. Pharmacol. 23 (1974) 773) und Weinstock et al. (J. Med. Chem. 11 (1968) 573) berichten von einer potentiell diuretischen Wirkung von 2,7-Diamino-4-methylamino-6-phenylpteridin, Roth et al. (J. Am. Chem. Soc. 73 (1951) 1914) bestimmten die antagonistische Wirkung verschiedener folsäureanaloger (2-Amino-

4-alkylamino-pteridin-6-ylmethyl)-aminobenzoylglutamate auf *S. faecalis* R. Die Wirkung dieser Derivate, die von den Autoren als "schwach" charakterisiert wird, dürfte in hohem Maße an das Vorhandensein des für solche Wirkstoffe typischen Aminobenzoylglutamats in der 6-Position des Pteridins zurückzuführen sein.

5

Die Verwendung von Pterin-Analoga zur Hemmung der NO-Synthase (NOS) wurde in der Literatur bislang ebenfalls nur wenig diskutiert. Die Mehrzahl aller publizierten pharmakologischen Ansätze zur NOS-Hemmung basieren auf einer kompetitiven Beeinflussung der Substrat-Bindungsstelle des Enzyms für L-Arginin über Substratanaloga (siehe etwa E.S. Furfine et al. J. Biol. Chem. 269 (1994) 26677).

10

Als weitere potentielle NO-Synthase-Hemmer wurden in der Literatur N-Iminoethylornithin (Mc Call et al., Br. J. Pharmacol. 102 (1991) 234), Aminoguanidin (T.P. Misko et al., Eur. J. Pharmacol., 233 (1993) 119, EP547588-A1) und 7-Nitroindazol (P.K. Moore et al., Br. J. Pharmacol. 108 (1993) 296) diskutiert.

15

Die Wirkung einfacher 6R-5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin-Analoga (BH₄-Analoga) auf die NO-Produktion wurde von Stuehr et al. (J. Biol. Chem. 264 (1989) 20496), Giovanelli et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. 88 (1991) 7091), Mülsch und Busse (J. Cardiovasc. Pharmacol. 17 (1991) S52), Sakai et al. (Mol. Pharmacol. 43 (1992) 6), Werner et al. (FEBS Letters 305 (1992) 160), Wachter et al. (Biochem. J. 289 (1993) 357) sowie von Hevel und Marletta (Biochemistry 31 (1992) 7160) untersucht. Danach sind 6S-BH₄, 7-R/S-BH₄, 6-Methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin und Dihydrobiopterin in der Lage, den natürlichen Cofaktor teilweise zu ersetzen. Biopterin, 6,7-Dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropterin, Tetrahydrofolsäure, Dihydrofolsäure, Folsäure, Tetrahydroneopterin, Dihydroneopterin, Neopterin, Methotrexat, Pterin, 6-Hydroxymethylpterin, Xanthopterin und Isoxanthopterin zeigten keine signifikanten Effekte. Nur mit 5-Deaza-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin konnte eine schwache Hemmung der NO-Synthase erreicht werden. Overfeld et al. (Br. J. Pharmacol., 107 (1992) 1008) beobachteten in intakten alveolaren Rattenmacrophagen eine Hemmung der NO-Produktion durch BH₄ und Sepiapterin, die vermutlich auf einem feed back-Mechanismus beruht. Pterin-6-carbonsäure zeigte in diesen Tests keine Wirkung.

30

Bömmel et al. (J. Biol. Chem. 273 (1998) 33142 und Portland Press Proc. 15 (1998) 57) verwendeten Pterine und photolabile Pterinderivate zur Charakterisierung der Tetrahydrobiopterin-Bindungsstelle der NO-Synthase.

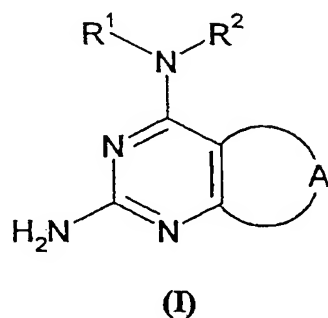
- 5 Die Verwendung von Pteridinonen zur Hemmung der NO-Synthase wird in WO-A-94/14780 offengelegt. EP-A-0,760,818 und EP-A-0,760,664 beschreiben die Verwendung einer Reihe unterschiedlich substituierter Pteridine und Tetrahydropteridine zur Hemmung der NO-Synthase. Die darin beschriebenen Pterine und Pteridine sind jedoch hinsichtlich einiger Eigenschaften, wie Aktivität, Selektivität für bestimmte NO-Synthase-Isoformen
10 und Löslichkeit weiterhin verbesserungsbedürftig.

- Pfeiffer et al. (Biochem. J. 328 (1997) 349) beschreiben 4-Aminobiopterin als Hemmstoff der NO-Synthase (Biochem. J., 328 (1997) 349). Diese Verbindungen wiesen u.a. eine freie Amino-Gruppe in 4-Position und eine im Vergleich zum natürlichen Cofaktor
15 unveränderte Seitenkette in 6-Position auf. Kürzlich gelöste Röntgenstrukturen (B. R. Crane et al., Science 279 (1998) 2121) zeigen Wechselwirkungen dieser Verbindungen mit NO-Synthase.

- Überraschend wurde nun gefunden, daß insbesondere Pteridine, deren Aminogruppe in 4-
20 Position durch Substituenten, bevorzugt durch Alkylierung bzw. Dialkylierung, weitgehend blockiert ist und die in 6-Position eine vorwiegend lipophile Gruppe tragen, potente Hemmstoffe der NO-Synthase sind und als solche zur Behandlung von Krankheiten, die mit einem erhöhten NO-Spiegel in Verbindung stehen, verwendet werden können.

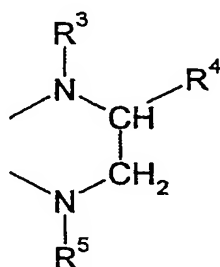
- 25 Die Pterine der allgemeinen Formel I stellen im Vergleich zu den in EP 0 760 818 und EP 0 760 664 offengelegten Pterinen vor allem in Hinblick auf die NO-Synthase hemmende Wirkung, Isoformselektivität und die nachhaltig verbesserten Löslichkeitseigenschaften einen erheblichen und in jeder Hinsicht überraschenden Fortschritt dar.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der allgemeinen Formel I

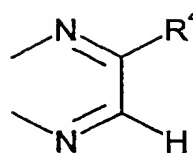


5 wobei

A für eine Verbrückung der Form



oder



10 steht,

15 R^1 für Wasserstoff, Alkyl, Alkenyl, Alkynyl, vorzugsweise (C_1-C_{10}) -Alkyl, Cycloalkyl, Cycloalkenyl, vorzugsweise (C_3-C_8) -Cycloalkyl, Cycloalkylalkyl, Aryl, Alkylaryl, vorzugsweise (C_1-C_3) -Alkylaryl oder Arylalkyl steht, wobei die organischen Reste, vorzugsweise die Alkylreste durch einen oder mehrere Substituenten, vorzugsweise durch Substituenten R^6 , substituiert sein können,

20 R^2 unabhängig von R^1 für Alkyl, Alkenyl, Alkynyl, vorzugsweise (C_1-C_{10}) -Alkyl, Cycloalkyl, Cycloalkenyl, vorzugsweise (C_3-C_8) -Cycloalkyl, Cycloalkylalkyl, Aryl oder Alkylaryl, vorzugsweise (C_1-C_3) -Alkylaryl, oder Arylalkyl steht, wobei die organischen Reste, vorzugsweise die Alkylreste durch einen oder mehrere Substituenten, vorzugsweise durch Substituenten R^6 , substituiert sein können,

25 R^1 und R^2 , zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 3-8 gliedrigen Ring bilden können, der wahlweise 0, 1 oder 2 weitere Heteroatome aus der Reihe N, O,

S enthalten kann, und der gegebenenfalls mit einem oder mehreren Resten, vorzugsweise Resten R^6 substituiert ist,

5 R^3 für Wasserstoff, -CO-Alkyl, vorzugsweise -CO-(C_1 - C_7)-Alkyl, -CO-Alkylaryl, vorzugsweise -CO-(C_1 - C_3)-Alkylaryl oder -CO-Aryl steht,

10 R^4 für Alkyl, Alkenyl, Alkynyl, vorzugsweise (C_1 - C_{10})-Alkyl, Cycloalkyl, Cycloalkenyl, vorzugsweise (C_3 - C_8)-Cycloalkyl, Cycloalkylalkyl, Aryl oder Alkylaryl, vorzugsweise (C_1 - C_3)-Alkylaryl, Arylalkyl, -CO-O-Alkyl, vorzugsweise -CO-O-(C_1 - C_5)-Alkyl, -CO-O-Aryl, -CO-Alkyl, vorzugsweise -CO-(C_1 - C_5)-Alkyl oder -CO-Aryl steht, wobei die organischen Reste, vorzugsweise die Alkylreste durch einen oder mehrere Substituenten, insbesondere durch Substituenten R^7 , substituiert sein können,

15 R^5 unabhängig von R^3 für Wasserstoff, -CO-Alkyl, vorzugsweise -CO-(C_1 - C_7)-Alkyl, -CO-Alkylaryl, vorzugsweise -CO-(C_1 - C_3)-Alkylaryl oder -CO-Aryl steht,

20 R^6 für -F, -OH, -O-(C_1 - C_{10})-Alkyl, -O-Phenyl, -O-CO-(C_1 - C_{10})-Alkyl, -O-CO-Aryl, - NR^8R^9 , Oxo, Phenyl, -CO-(C_1 - C_5)-Alkyl, - CF_3 , -CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C_1 - C_5)-Alkyl, -CO-O-Aryl, -S(O)_n-(C_1 - C_5)-Alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹,

R^7 unabhängig von R^6 eine der Bedeutungen von R^6 hat,

25 R^8 für Wasserstoff oder Alkyl, vorzugsweise (C_1 - C_5)-Alkyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Alkyl, vorzugsweise (C_1 - C_5)-Alkyl oder Aryl, vorzugsweise Phenyl steht,

30 Aryl vorzugsweise für Phenyl, Naphtyl oder Heteroaryl steht, die unsubstituiert oder substituiert sein können, beispielsweise durch einen oder mehrere gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Reihe Halogen, Alkyl, vorzugsweise (C_1 - C_5)-Alkyl, Phenyl, -OH, -O-Alkyl, vorzugsweise -O-(C_1 - C_5)-Alkyl, Alkylendioxy, vorzugsweise (C_1 - C_2)-Alkylendioxy, -NR⁸R⁹, -NO₂, -CO-(C_1 - C_5)-Alkyl, - CF_3 , -

CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C₁-C₅)-Alkyl, -S(O)_n-(C₁-C₅)-Alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹ substituiert sein können,

Heteroaryl für einen 5- bis 7-gliedrigen ungesättigten Heterocyclus steht, der ein oder
5 mehrerer Heteroatome aus der Reihe O, N, S enthält,

n für 0, 1 oder 2 steht,

in allen ihren stereoisomeren und tautomeren Formen und Mischungen davon in allen
10 Verhältnissen, und ihre physiologisch verträglichen Salze, Hydrate, und Ester.

Können Gruppen oder Substituenten mehrfach in den Verbindungen der Formel I vorkommen, so können sie alle unabhängig voneinander die angegebenen Bedeutungen haben und können jeweils gleich oder verschieden sein.

15 Alkylreste können geradkettig oder verzweigt sein. Dies gilt auch, wenn sie in anderen Gruppen enthalten sind, zum Beispiel in Alkoxygruppen, Alkoxycarbonylgruppen oder in Aminogruppen, oder wenn sie substituiert sind. Alkylreste enthalten üblicherweise ein bis zwanzig Kohlenstoffatome, vorzugsweise ein bis zehn Kohlenstoffatome.

20 Beispiele für Alkylgruppen sind Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Pentyl, Hexyl, Heptyl, Octyl, Nonyl, Decyl, die n-Isomeren dieser Reste, Isopropyl, Isobutyl, Isopentyl, secButyl, tert-Butyl, Neopentyl, 3,3-Dimethylbutyl.

25 Beispiele für Alkenylreste sind geradkettige oder verzweigte Kohlenwasserstoffreste, die eine oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Alkenylreste enthalten üblicherweise zwei bis zwanzig Kohlenstoffatome und ein oder zwei Doppelbindungen, vorzugsweise zwei bis zehn Kohlenstoffatome und eine Doppelbindung.

30 Beispiele für Alkinyreste sind geradkettige oder verzweigte Kohlenwasserstoffreste, die eine oder mehrere Dreifachbindungen enthalten. Alkinyreste enthalten üblicherweise zwei bis zwanzig Kohlenstoffatome und ein oder zwei Dreifachbindungen, vorzugsweise zwei bis zehn Kohlenstoffatome und eine Dreifachbindung.

Beispiele für Alkenylreste sind der Vinylrest, der 2-Propenylrest (Allylrest), der 2-Butenylrest und der 2-Methyl-2-propenylrest.

Beispiele für Alkynylreste sind der Ethinylrest, der 2-Propinylrest (Propargylrest) oder der 3-Butinylrest.

Cycloalkylreste sind gesättigte cyclische Kohlenwasserstoffe, die üblicherweise drei bis acht Ring-Kohlenstoffatome enthalten, vorzugsweise fünf oder sechs Ring-Kohlenstoffatome. Cycloalkylreste können ihrerseits substituiert sein.

Beispiele für Cycloalkylreste sind Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, Cycloheptyl und Cyclooctyl, die alle auch zum Beispiel durch einen oder mehrere gleiche oder verschiedene (C₁-C₄)-Alkylreste, insbesondere durch Methyl, substituiert sein können. Beispiele für solche substituierten Cycloalkylreste sind 4-Methylcyclohexyl, oder 2,3-Dimethylcyclopentyl.

Cycloalkenylreste sind ungesättigte cyclische Kohlenwasserstoffe, die üblicherweise drei bis acht Ring-Kohlenstoffatome enthalten, vorzugsweise fünf oder sechs Ring-Kohlenstoffatome. Vorzugsweise weisen Cycloalkenylreste eine Doppelbindung im Ringsystem auf. Cycloalkenylreste können ihrerseits substituiert sein.

Cycloalkylalkylreste sind gesättigte Kohlenwasserstoffe, die sich von einer Cycloalkylsubstituierten Alkylgruppe ableiten. Üblicherweise weist die Cycloalkylgruppe fünf bis sechs Ring-Kohlenstoffatome auf. Beispiele für Cycloalkylalkylreste sind Cyclopentylmethyl, Cyclopentylethyl, Cyclohexylethyl und insbesondere Cyclohexylmethyl. Cycloalkylalkylreste können ihrerseits substituiert sein.

Aryl steht für einen carbocyclischen oder heterocyclischen aromatischen Rest, vorzugsweise für Phenyl, Naphtyl oder Heteroaryl. Arylreste können unsubstituiert oder substituiert sein. Substituenten sind ein oder mehrere gleiche oder verschiedene einwertige organische Reste, beispielsweise oder aus der Reihe Halogen, Alkyl, Phenyl, -OH, -O-Alkyl, Alkylendioxy, -NR⁸R⁹, -NO₂, -CO-(C₁-C₅)-Alkyl, -CF₃, -CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C₁-C₅)-Alkyl, -S(O)_n-(C₁-C₅)-Alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹.

Alkylaryl steht für einen alkylsubstituierten Arylrest, vorzugsweise für (C₁-C₃)-Alkylaryl, insbesondere Methylphenyl.

5 Arylalkyl steht für einen Arylsubstituierten Alkylrest, vorzugsweise für Phenylmethyl oder 2-Phenylethyl.

Heteroaryl oder ein heterocyclischer aromatischer Rest steht vorzugsweise für einen 5- bis 7-gliedrigen ungesättigten Heterocyclus, der ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S aufweist.

10

Beispiele für Heteroaryle von denen sich in den Verbindungen der Formel I vorkommende Reste ableiten können, sind Pyrrol, Furan, Thiophen, Imidazol, Pyrazol, 1,2,3-Triazol, 1,2,4-Triazol, 1,3-Oxazol, 1,2-Oxazol, 1,3-Thiazol, 1,2-Thiazol, Tetrazol, Pyridin, Pyridazin, Pyrimidin, Pyrazin, Pyran, Thiopyran, 1,4-Dioxin, 1,2-Oxazin, 1,3-Oxazin, 1,4-
15 Oxazin, 1,2-Thiazin, 1,3-Thiazin, 1,4-Thiazin, 1,2,3-Triazin, 1,2,4-Triazin, 1,3,5-Triazin, 1,2,4,5-Tetrazin, Azepin, 1,2-Diazepin, 1,3-Diazepin, 1,4-Diazepin, 1,3-Oxazepin oder 1,3-Thiazepin.

Die von diesen Heterocyclen abgeleiteten Reste können über jedes geeignete
20 Kohlenstoffatom gebunden sein. Stickstoffheterocyclen, die an einem Ring-Stickstoffatom ein Wasserstoffatom (oder einen Substituenten) tragen, zum Beispiel Pyrrol, Imidazol, etc., können auch über ein Ring-Stickstoffatom gebunden sein, insbesondere, wenn der betreffende Stickstoffheterocyclus an ein Kohlenstoffatom gebunden ist. Ein Thienylrest kann beispielsweise als 2-Thienylrest oder 3-Thienylrest vorliegen, ein Furanrest als 2-
25 Furylrest oder 3-Furylrest, ein Pyridylrest als 2-Pyridylrest, 3-Pyridylrest oder 4-Pyridylrest.

Halogen bedeutet Fluor, Chlor, Brom oder Iod, vorzugsweise Fluor oder Chlor.

30 R¹ ist bevorzugt Wasserstoff, (C₂-C₄)-Alkyl, das durch einen oder mehrere Substituenten R⁶ substituiert sein kann, (C₁-C₂)-Alkylaryl, besonders bevorzugt steht R¹ für Arylmethyl

R² ist bevorzugt (C₂-C₄)-Alkyl, das durch einen oder mehrere Substituenten R⁶ substituiert sein kann, (C₁-C₂)-Alkylaryl, besonders bevorzugt steht R² für Arylmethyl

5 darüberhinaus bilden R¹ und R² bevorzugt zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-7-gliedrigen Ring, der vorzugsweise kein oder nur ein weiteres Heteroatom aus der Reihe N, O, S enthält. Ganz besonders bevorzugte Ringe dieser Art sind Pyrrolidin, Piperidin, Morpholin, Dimethylmorpholin, Thiomorpholin oder N-(C₁-C₂)-Alkylpiperazin, wobei diese Ringe selbst auch
10 substituiert sein können, beispielsweise durch -OH, -O-(C₁-C₃)-Alkyl, -NR⁸R⁹ oder -COOH.

R³ ist bevorzugt Wasserstoff, CO-(C₁-C₃)-Alkyl oder CO-Aryl, ganz besonders bevorzugt steht R³ für Wasserstoff.

15

R⁴ steht bevorzugt für Aryl, (C₁-C₅)-Alkyl, das durch einen oder mehrere Substituenten R⁷ substituiert sein kann, oder -CO-O-Aryl. Besonders bevorzugte Reste R⁴ sind Aryl und 1,2-Dihydroxypropyl.

20 R⁵ steht bevorzugt für Wasserstoff.

R⁶ steht bevorzugt für -OH, -O-(C₁-C₃)-Alkyl, -NR⁸R⁹ oder -COOH.

R⁷ steht bevorzugt für -OH, -O-(C₁-C₁₀)-Alkyl, Phenoxy, Oxo, besonders bevorzugt
25 für -OH, Decyloxy und Phenoxy.

Aryl ist bevorzugt Phenyl, Thiophenyl, Furyl und Pyridyl, besonders bevorzugt ist Phenyl. die alle wie beschrieben substituiert sein können. Bevorzugte Substituenten sind (C₁-C₃)-Alkyl, Halogen und (C₁-C₃)-Alkyloxy und (C₁-C₂)-Alkylendioxy. Die
30 bevorzugte Anzahl von Substituenten an Arylresten ist 0,1 oder 2; Phenylsubstituenten befinden sich vorzugsweise in der meta- oder para-Position, im Falle zweier Substituenten in der 3- und 4-Position.

n steht bevorzugt für 0 und 2

In Bezug auf sogenannte Struktur-Wirkungsbeziehungen ist festzuhalten, daß hier insbesondere die 4- und die 6-Position des Pterin-Gerüsts von Bedeutung zu sein scheinen. Bei den Tetrahydropterinen (vergl. Formel (b)) erhöhen z.B. großvolumige Substituenten in 6-Position, wie z.B. substituiertes Phenyl, die Aktivität der Wirkstoffe. Bei den aromatischen Strukturen (vergl. Formel (a)) ist eine Aktivitätserhöhung bevorzugt dann zu beobachten, wenn der Aminosubstituent in 4-Position dialkyliert bzw diaralkyliert ist und die 6-Position aryliert ist.

- 10 Die Erfindung umfaßt alle möglichen Enantiomeren und Diastereomere der Verbindungen der allgemeinen Formel I, ebenso Mischungen von zwei oder mehr stereoisomeren Formen, zum Beispiel Mischungen von Enantiomeren und/oder Diastereomeren, in allen Verhältnissen.
- 15 Enantiomere werden also in enantiomerenreiner Form, sowohl als linksdrehende als auch als rechtsdrehende Antipoden, in Form von Racematen und in Form von Mischungen der beiden Enantiomeren in allen Verhältnissen von der Erfindung umfaßt. Bei Vorliegen einer cis/trans-Isomerie werden sowohl die cis-Form als auch die trans-Form und Gemische dieser Formen in allen Verhältnissen von der Erfindung umfaßt. Die Herstellung von
- 20 einzelnen Stereoisomeren kann gewünschtenfalls durch Auftrennung eines Gemisches nach üblichen Methoden, zum Beispiel durch Chromatographie oder Kristallisation, durch Verwendung von stereochemisch einheitlichen Ausgangssubstanzen bei der Synthese oder durch stereoselektive Synthese erfolgen. Gegebenenfalls kann vor einer Trennung von Stereoisomeren eine Derivatisierung erfolgen. Die Trennung eines Stereoisomeren-
- 25 gemisches kann auf der Stufe der Verbindungen der Formel I erfolgen oder auf der Stufe eines Zwischenprodukts im Verlaufe der Synthese. Bei Vorliegen von beweglichen Wasserstoffatomen umfaßt die vorliegende Erfindung auch alle tautomeren Formen der Verbindungen der Formel I.
- 30 Die Erfindung umfaßt auch die entsprechenden physiologisch oder toxikologisch verträglichen Salze, insbesondere die pharmazeutisch verwendbaren Salze. So können die Verbindungen der Formel I, die saure Gruppen enthalten, an diesen Gruppen beispielsweise als Alkalimetallsalze, Erdalkalimetallsalze oder als Ammoniumsalze vorliegen und erfindungsgemäß verwendet werden. Beispiele für solche Salze sind

Natriumsalze, Kaliumsalze, Calciumsalze, Magnesiumsalze oder Salze mit Ammoniak oder organischen Aminen wie beispielsweise Ethylamin, Ethanolamin, Triethanolamin oder Aminosäuren.

- 5 Verbindungen der Formel I, die eine oder mehrere basische, das heißt protonierbare, Gruppen enthalten, können in Form ihrer Säureadditionssalze mit physiologisch verträglichen anorganischen oder organischen Säuren vorliegen und erfindungsgemäß verwendet werden, zum Beispiel als Salze mit Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Methansulfonsäure, p-Toluolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäuren, Oxalsäure, Essigsäure, Weinsäure, Milchsäure, Salicylsäure, Benzoessäure, Ameisensäure, Propionsäure, Pivalinsäure, Diethylelessigsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure, Pimelinsäure, Fumarsäure, Maleinsäure, Äpfelsäure, Sulfaminsäure, Phenylpropionsäure, Gluconsäure, Ascorbinsäure, Isonicotinsäure, Zitronensäure, Adipinsäure usw.

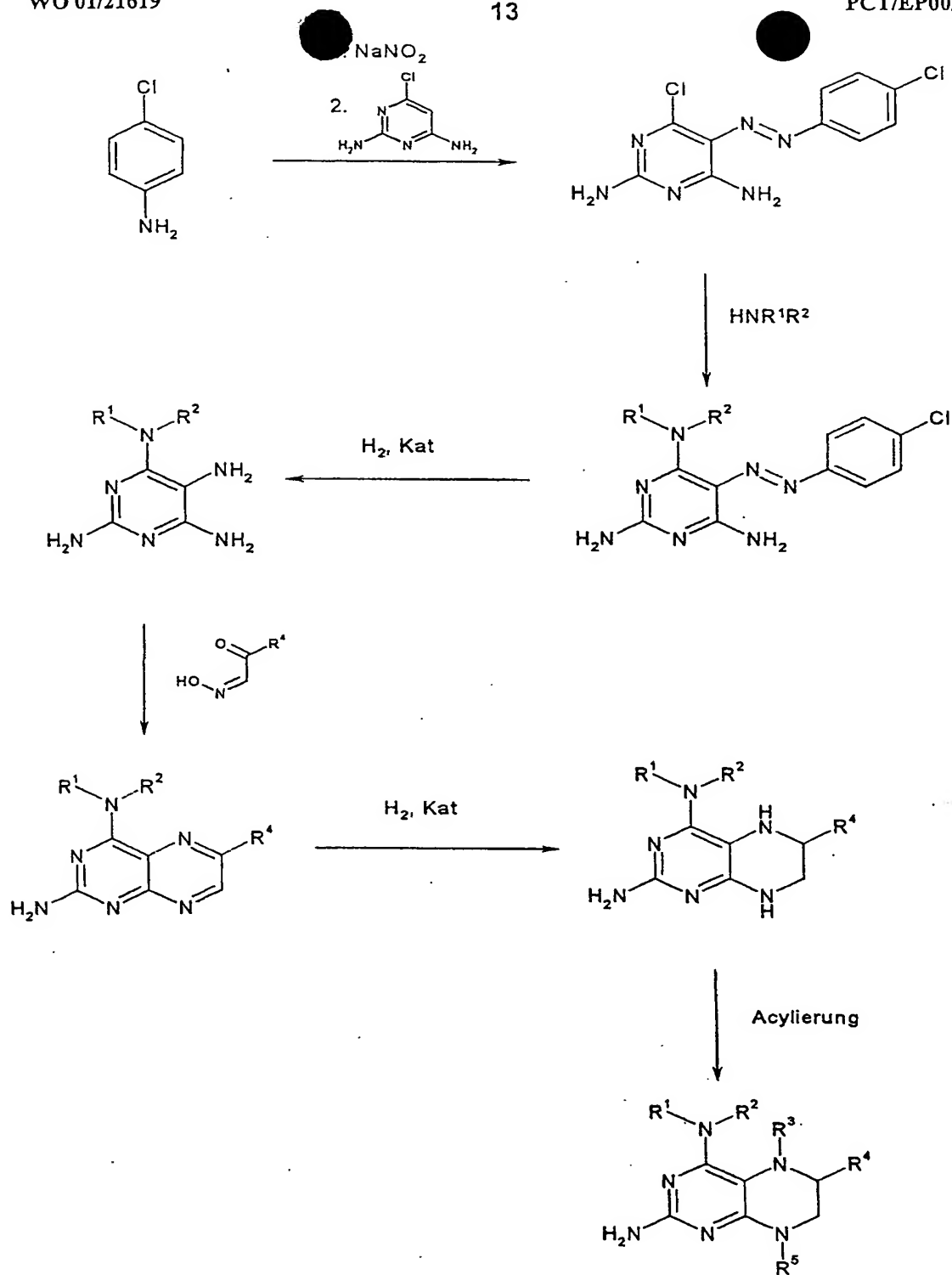
15

Enthalten die Verbindungen der Formel I gleichzeitig saure und basische Gruppen im Molekül, so gehören neben den geschilderten Salzformen auch innere Salze oder Betaine (Zwitterionen) zu der Erfindung.

- 20 Salze können aus den Verbindungen der Formel I nach üblichen, dem Fachmann bekannten Verfahren erhalten werden, beispielsweise durch Vereinigung mit einer organischen oder anorganischen Säure oder Base in einem Lösungsmittel oder Dispergiermittel, oder auch durch Anionenaustausch oder Kationenaustausch aus anderen Salzen. Die vorliegende Erfindung umfaßt weiterhin alle Solvate von Verbindungen der Formel I, zum Beispiel Hydrate oder Addukte mit Alkoholen, sowie Derivate der Verbindungen der Formel I wie zum Beispiel Ester, und Pro-Drugs und aktive Metabolite.

25

Erfindungsgemäße Verbindungen der allgemeinen Formel I können gemäß folgendem Syntheschema



erhalten werden:

Das Schema wird nachfolgend näher erläutert:

5

Zur Synthese der Verbindungen der allgemeinen Formel I wird 2,6-Diamino-4-chlor-5-p-chlorphenylazopyrimidin (II) in Substanz oder in einem Lösungsmittel wie etwa DMF,

Toluol oder Tetrahydrofuran mit einem 2-20-fachen Überschuß eines Amins der allgemeinen Formel HNR^1R^2 (III) bei einer Temperatur, die vorzugsweise zwischen Raumtemperatur (RT) und dem Siedepunkt des Lösungsmittels liegt, umgesetzt Alternativ kann die Umsetzung auch mit einer äquimolaren Menge des Amins in Gegenwart einer
5 Hilfsbase wie etwa Triethylamin oder Hünig-Base vorgenommen werden.

Die resultierenden 2,6-Diamino-4-(subst.-amino)-5-p-chlorphenylazopyrimidine (IV) werden in einem Lösungsmittel wie etwa Methanol, Ethanol oder Wasser, vorzugsweise in Gegenwart einer Säure wie etwa HCl oder Essigsäure, oder in Gegenwart einer Base, wie
10 etwa Ammoniak, mit Hilfe eines Katalysators wie etwa Raney-Nickel, Platindioxid oder Palladium auf Kohle bei einem Wasserstoffdruck zwischen 1 und 200atm hydriert.

Die auf diese Weise erhaltenen 2,5,6-Triamino-4-(subst.-amino)-pyrimidine (V) werden sodann in einem Lösungsmittel wie etwa Methanol, Ethanol, DMF oder Wasser mit dem
15 jeweiligen, den Rest R^4 enthaltenden Glyoxalmonoxim (VI) vermischt und diese Mischung bis zur vollständigen Umsetzung bei einer Temperatur, die zwischen RT und dem Siedepunkt des eingesetzten Lösungsmittels liegt gerührt. Nach dem Abkühlen wird die Suspension oder Lösung mit einer Base wie etwa Ammoniak basisch gestellt, der ausgefallene Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet.

20

Eine Lösung des resultierenden Pteridins wird in einem Lösungsmittel wie THF, Methanol oder Ethanol unter Zuhilfenahme eines Katalysators wie etwa Raney-Nickel, Platindioxid oder Palladium auf Kohle bei einem Wasserstoffdruck zwischen 1 und 200atm hydriert.

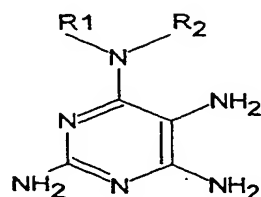
25 Die weitere Derivatisierung zur Einführung der Substituenten R^3 und/oder R^4 kann nach den dem Fachmann bekannten Standardverfahren für Acylierungen vorgenommen werden.

Die o.g. Reaktionen zur Herstellung von 4-Aminopteridinderivaten sind grundsätzlich beispielsweise in WO-A-97/21711 beschrieben.

30

Das o.g. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel I ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Die Verbindungen der Formel V sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung



(V),

Darin besitzen R¹ und R² die weiter oben definierte Bedeutung.

Krankheiten, die durch einen erhöhten NO-Spiegel entstehen und die somit erfindungsgemäß mit Verbindungen der allgemeinen Formel I behandelt werden können bzw. denen mit diesen vorgebeugt werden kann, sind insbesondere pathologische Blutdruckabfälle, wie sie beim septischen oder hämorrhagischen Schock, bei der Tumorthherapie mit Cytokinen oder bei der Leberzirrhose auftreten oder Autoimmunerkrankungen, wie Typ I Diabetes sowie Atherosklerose. Desweiteren entzündliche Erkrankungen, wie rheumatoide Arthritis und insbesondere Colitis ulcerosa, sowie insulinabhängige Diabetes mellitus und Transplantatabstoßungsreaktionen.

Auch die folgenden Erkrankungen stehen im Zusammenhang mit einer gesteigerten Produktion von Stickstoffmonoxid und können erfindungsgemäß behandelt werden. Im Bereich Herz-Kreislauf sind dies Atherosklerose, postischämische Reperfusionsschäden, Myokarditis auf der Grundlage einer Cocksackie-Virus-Infektion und Kardiomyopathie; im Bereich Zentrales Nervensystem Neuritisformen, Enzephalomyelitiden, virale neurodegenerative Erkrankungen, Morbus Alzheimer, Hyperalgesie, Epilepsie und Migräne; im Bereich Niere akutes Nierenversagen sowie Glomerulonephritis.

Außerdem sind auch Behandlungen im Bereich des Magens und des Uterus/Plazenta sowie eine Beeinflussung der Motilität der Spermien Anwendungsgebiete für Verbindungen der allgemeinen Formel I.

Die Verbindungen der Formel I und ihre physiologisch verträglichen Salze, Hydrate, Ester und Addukte können somit am Tier, bevorzugt am Säugetier, und insbesondere am Menschen als Arzneimittel für sich allein, in Mischungen untereinander oder zusammen mit anderen Wirkstoffen verwendet werden. Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist

daher insbesondere auch die Verwendung von Verbindungen der Formel I und ihren physiologisch verträglichen Salzen, Hydraten und Estern zur Herstellung eines Medikaments zur Therapie oder Prophylaxe der vorstehend genannten Krankheitsbilder sowie die Verwendung zur Herstellung eines Medikaments zur Absenkung oder

5 Normalisierung eines NO-Spiegels.

Ebenso ist Gegenstand der Erfindung die Verwendung der Verbindungen der Formel I und ihrer physiologisch verträglichen Salze, Hydrate und Ester zur Hemmung der NO-Synthase, ihre Verwendung zur Therapie oder Prophylaxe der vorstehend genannten

10 Krankheitsbilder und ihre Verwendung zur Normalisierung eines gestörten NO-Haushalts.

Ebenso umfaßt sind Arzneimittel, die die Verbindungen der Formel I, ihre physiologisch verträglichen Salze, Ester und Hydrate und Ester allein, in Mischungen untereinander oder zusammen mit anderen Wirkstoffen neben üblichen Hilfs- und Zusatzstoffen enthalten.

Derartige andere therapeutisch wirksame Substanzen sind beispielsweise: β -Rezeptorenblocker, wie z.B. Propranolol, Pindolol, Metoprolol; Vasodilatoren, wie z.B. Carbocromen; Beruhigungsmittel, wie z.B. Barbituresäurederivate, 1,4-Benzodiazepine und Meprobamat; Diuretica, wie z.B. Clororthiazid; das Herz tonisierende Mittel, wie z.B.

15 Digitalispräparate; blutdrucksenkende Mittel, wie z.B. Hydralazin, Dihydralazin, ACE-Hemmer, Prazosin, Clonidin, Rauwolfia-Alkaloide; Mittel, die den Fettsäurespiegel im Blut senken, wie z.B. Bezafibrat; Fenofibrat; Mittel für die Thromboseprophylaxe, wie z.B. Phenprocoumon; entzündungshemmende Substanzen, wie etwa Corticosteroide; Salicylate, oder Propionsäure-derivate, wie beispielsweise Ibuprofen; Antibiotika, wie z.B.

20 Penicilline oder Cephalosporine; NO-Donoren, wie z.B. organische Nitrate oder Sydnonimine.

Arzneimittel gemäß der vorliegenden Erfindung können oral, zum Beispiel in Form von Pillen, Tabletten, Filmtabletten, Dragees, Granulaten, Hart- und Weichgelatine kapseln, wäßrigen, alkoholischen oder öligen Lösungen, Sirupen, Emulsionen oder Suspensionen, oder rektal, zum Beispiel in Form von Suppositorien, verabreicht werden. Die Verabreichung kann aber auch parenteral erfolgen, zum Beispiel subkutan, intramuskulär oder intravenös in Form von Injektionslösungen oder Infusionslösungen. Weitere in Betracht kommende Applikationsformen sind zum Beispiel die perkutane oder topische

30

Applikation, zum Beispiel in Form von Salben, Tinkturen, Sprays oder transdermalen therapeutischen Systemen, oder die inhalative Applikation in Form von Nasalsprays oder Aerosolmischungen, oder zum Beispiel Mikrokapseln, Implantate oder Rods. Die bevorzugte Applikationsform hängt zum Beispiel von der zu behandelnden Krankheit und ihrer Stärke ab.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Medikamente kann nach den bekannten Standardverfahren zur Herstellung pharmazeutischer Präparate erfolgen.

Dazu werden ein oder mehrere Verbindungen der Formel I und/oder ihre physiologisch verträglichen Salze, Ester und Hydrate zusammen mit einem oder mehreren festen oder flüssigen galenischen Trägerstoffen und/oder Zusatzstoffen oder Hilfsstoffen und, wenn gewünscht, in Kombination mit anderen Arzneimittelwirkstoffen mit therapeutischer oder prophylaktischer Wirkung in eine geeignete Verabreichungsform bzw. Dosierungsform gebracht, die dann als Arzneimittel in der Humanmedizin oder Veterinärmedizin verwendet werden kann. Die pharmazeutischen Präparate enthalten eine therapeutisch oder prophylaktisch wirksame Dosis der Verbindungen der Formel I und/oder ihrer physiologisch verträglichen Salze, Ester und Hydrate, die normalerweise 0.5 bis 90 Gewichtsprozent des pharmazeutischen Präparats ausmacht.

Für die Herstellung beispielsweise von Pillen, Tabletten, Dragees und Hartgelatinekapsein kann man Lactose, Stärke, zum Beispiel Maisstärke, oder Stärkederivate, Talk, Stearinsäure oder deren Salze, etc. verwenden. Trägerstoffe für Weichgelatinekapsein und Suppositorien sind zum Beispiel Fette, Wachse, halbfeste und flüssige Polyole, natürliche oder gehärtete Öle etc. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Lösungen, zum Beispiel Injektionslösungen, oder von Emulsionen oder Sirupen eignen sich beispielsweise Wasser, physiologische Kochsalzlösung, Alkohole wie Ethanol, Glycerin, Polyole, Saccharose, Invertzucker, Glucose, Mannit, pflanzliche Öle etc. Die Verbindungen der Formel I und ihre physiologisch verträglichen Salze, Ester und Hydrate können auch lyophilisiert werden und die erhaltenen Lyophilisate zum Beispiel zur Herstellung von Injektionspräparaten oder Infusionspräparaten verwendet werden. Als Trägerstoffe für Mikrokapseln, Implantate oder Rods eignen sich zum Beispiel Mischpolymerisate aus Glykolsäure und Milchsäure.

Die pharmazeutischen Präparate können neben den Wirkstoffen und Trägerstoffen noch übliche Zusatzstoffe enthalten, zum Beispiel Füllstoffe, Spreng-, Binde-, Gleit-, Netz-, Stabilisierungs-, Emulgier-, Dispergier-, Konservierungs-, Süß-, Färb-, Geschmacks- oder Aromatisierungs-, Dickungs-, Verdünnungsmittel, Puffersubstanzen, ferner Lösungsmittel
5 oder Lösungsvermittler oder Mittel zur Erzielung eines Depoteffekts, Salze zur Veränderung des osmotischen Drucks, Überzugsmittel oder Antioxidantien.

Die Dosierung des zu verabreichenden Wirkstoffs der Formel I und/oder eines physiologisch verträglichen Salzes, Esters oder Hydrats davon, hängt vom Einzelfall ab
10 und ist wie üblich für eine optimale Wirkung den individuellen Gegebenheiten anzupassen. So hängt sie ab von der Art und Stärke der zu behandelnden Krankheit sowie von Geschlecht, Alter, Gewicht und individueller Ansprechbarkeit des zu behandelnden Menschen oder Tieres, von der Wirkstärke und Wirkdauer der eingesetzten Verbindungen, davon, ob akut oder chronisch therapiert wird oder Prophylaxe betrieben wird, oder davon,
15 ob neben Verbindungen der Formel I weitere Wirkstoffe verabreicht werden. Im allgemeinen ist eine Tagesdosis von etwa 0.01 bis 100 mg/kg, vorzugsweise 0.1 bis 10 mg/kg, insbesondere 0.3 bis 5 mg/kg (jeweils mg pro kg Körpergewicht) bei Verabreichung an einen ca. 75 kg schweren Erwachsenen zur Erzielung der angestrebten Wirkung angemessen. Die Tagesdosis kann in einer Einzeldosis verabreicht werden oder,
20 insbesondere bei der Applikation größerer Mengen, in mehrere, zum Beispiel zwei, drei oder vier Einzeldosen aufgeteilt werden. Gegebenenfalls kann es, je nach individuellem Verhalten, erforderlich werden, von der angegebenen Tagesdosis nach oben oder nach unten abzuweichen. Pharmazeutische Präparate enthalten normalerweise 0.2 bis 500 mg, vorzugsweise 1 bis 200 mg Wirkstoff der Formel I und/oder dessen physiologisch
25 verträgliche Salze.

Die Verbindungen der Formel I hemmen die verschiedenen Isoformen der NO-Synthase vornehmlich durch Bindung in der Tetrahydrobiopterin-Bindungstasche des Enzyms. Aufgrund dieser Eigenschaft können sie außer als Arzneimittelwirkstoffe in der
30 Humanmedizin und Veterinärmedizin auch als wissenschaftliches Tool oder als Hilfsmittel für biochemische Untersuchungen eingesetzt werden, bei denen eine derartige Hemmung der NO-Synthase beabsichtigt ist, sowie für diagnostische Zwecke, zum Beispiel in der in vitro-Diagnostik von Zellproben oder Gewebeproben. Ferner können die Verbindungen der

Formel I und ihre Salze, Ester oder Hydrate als Zwischenprodukte zur Herstellung weiterer Arzneimittelwirkstoffe dienen.

Beispiele

5

Nachfolgende Herstellvorschriften und Beispiele erläutern die Erfindung ohne sie einzuschränken:

2,6-Diamino-4-chloro-5-p-chlorophenylazopyrimidin

- 10 Eine Lösung aus p-Chloranilin (25.5 g, 0.2 moles) in 6 N HCl (100 mL) wurde auf 0-5°C abgekühlt und anschließend eine Lösung aus NaNO₂ (13.8 g, 0.2 moles) in Wasser (40 ml) unter Rühren zugetropft. Nach Beendigung der Zugabe, wurde die Lösung weitere 15 min gerührt und der Reaktionsverlauf mit Hilfe von Jodstärkepapier (Blaufärbung) überprüft. Durch Zugabe von Harnstoff (5 g) wurde der Überschuss an HNO₂ zerstört. Die
- 15 Diazonium-Salz-Lösung wurde in eine Lösung von 2,6-Diamino-4-chlorpyrimidin (26.0 g, 0.18 moles) in Wasser (500 mL) gegossen und für 30 min gerührt. Anschließend wurde Kaliumacetat (70 g) zugegeben und die Mischung wurde für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das ausgefallene Produkt wurde abgesaugt, mit H₂O gewaschen und im Exsikkator unter Vakuum über P₄O₁₀ getrocknet. Ausbeute: 44.0 g (81%) gelber
- 20 Feststoff. Umkristallisation aus DMF/H₂O. Smp.: 268°C.

2,6-Diamino-4-alkylamino-5-p-chlorphenylazopyrimidine

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

25

Eine Lösung von 2,6-Diamino-4-chlor-5-p-chlorphenylazopyrimidin (5.0 g, 16.6 mmol) und 10g des Amins in DMF (50 mL) wurde in einem Ölbad bei 70°C für 5 Stunden gerührt. Nach Zugabe von Wasser (50 mL) wurde abgekühlt und der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus EtOH oder Aceton/Wasser umkristallisiert.

30

Auf diese Weise wurden erhalten:

- 1.) 2,6-Diamino-4-diethylamino-5-p-chlorphenylazopyrimidin, Smp.: 145-148°C

- 2.) 2,6-Diamino-4-dibenzylamino-5-p-chlorphenylazopyrimidin, Smp.: 185-186°C.
- 3.) 2,6-Diamino-4-(morpholin-4-yl)-5-p-chlorphenylazopyrimidin, Smp.: 219-221°C.
- 5 4.) 2,6-Diamino-4-(piperidin-1-yl)-5-p-chlorphenylazopyrimidin, Smp.: 199-201°C.
- 5.) 2,6-Diamino-4-(4-methylpiperazin-1-yl)-5-p-chlorphenylazopyrimidin, Smp.: 218-220°C.

10 **2,5,6-Triamino-4-alkylaminopyrimidine (Hydrochloride)**

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

Eine Lösung von 10 mmol des 2,6-Diamino-4-alkylamino-5-p-chlorphenylazopyrimidins
15 in Methanol (70 mL) und konz. Ammoniak (10 mL) wurde unter H₂-Atmosphäre in
Gegenwart des Katalysators Raney-Nickel (3.5 g) für 2 Tage in einer Schüttelapparatur
reduziert. Der Katalysator wurde unter Argon-Atmosphäre abfiltriert, und das Filtrat unter
Vakuum bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde zur Entfernung des p-
Chloroanilins mit Ether behandelt und der verbleibende Feststoff über Nacht mit
20 methanolischer HCl (10%, 50 mL) gerührt. Das Dihydrochlorid Salz wurde abgesaugt und
unter Vakuum im Exsikkator über KOH getrocknet.

Auf diese Weise wurden erhalten:

- 25 6.) 2,5,6-Triamino-4-diethylaminopyrimidin dihydrochlorid, Smp.: 138-142°C
- 7.) 2,5,6-Triamino-4-dibenzylaminopyrimidin dihydrochlorid, Smp.: 165-167°C
- 8.) 2,5,6-Triamino-4-(morpholin-4-yl)-pyrimidin dihydrochlorid, Smp.: 215-218°C
30 (Zersetzung)
- 9.) 2,5,6-Triamino-4-(piperidin-1-yl)-pyrimidin dihydrochlorid, Smp.: 238-242°C

- 10.) 2,5,6-Triamino-4-(4-alkylpiperazin-1-yl)-pyrimidin trihydrochlorid, Smp.: 226-230°C (Zersetzung)

2-Amino-4-alkylamino-6-(R⁴)-pteridine

5

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

Zu einer kochenden Lösung aus 2,5,6-Triamino-4-alkylaminopyrimidin-dihydrochlorid salz (5 mmol) in MeOH (20 mL) wurde eine Lösung aus des den Rest R⁴ enthaltenden Arylglyoxalmonoxims (7.5 mmol) in MeOH (10 mL) zugetropft und diese Mischung für 3
10 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wurde die Suspension oder Lösung mit konz. Ammoniak auf pH 9-10 gestellt, der ausgefallene Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Rohprodukt wurde aus aus EtOH und DMF/H₂O umkristallisiert.

15

Auf diese Weise wurden erhalten:

- 11.) 2-Amino-4-(dimethylamino)-6-phenyl-pteridin, Smp.: 247-250°C
- 20 12.) 2-Amino-4-(dimethylamino)-6-(4-methylphenyl)-pteridin, Smp.: 251-256°C
- 13.) 2-Amino-4-(dimethylamino)-6-(4-methoxyphenyl)-pteridin, Smp.: 280-284°C
(Zersetzung)
- 25 14.) 2-Amino-4-(dimethylamino)-6-methoxymethyl-pteridin, Smp.: 237-239°C
- 15.) 2-Amino-4-(diethylamino)-6-phenyl-pteridin Hydrat, Smp.: 203-205°C
- 16.) 2-Amino-4-(diethylamino)-6-(4-chlorphenyl)-pteridin Dihydrat, Smp.: 250-254°C
30 (Zersetzung)
- 17.) 2-Amino-4-(diethylamino)-6-(4-methoxyphenyl)-pteridin Hydrat, Smp.: 220-222°C

- 18.) 2-Amino-4-(diethylamino)-6-(3,4-dimethoxyphenyl)-pteridin Hydrat, Smp.: 182-185°C
- 19.) 2-Amino-4-(dibenzylamino)-6-phenyl-pteridin Dihydrat, Smp.: 225-227°C
- 5 20.) 2-Amino-4-(dibenzylamino)-6-(4-chlorophenyl)-pteridin Dihydrat, Smp.: 250-253°C
- 21.) 2-Amino-4-(dibenzylamino)-6-(4-methoxyphenyl)-pteridin, Smp.: 245-247°C
- 10 22.) 2-Amino-4-(dibenzylamino)-6-(3,4-dimethoxyphenyl)-pteridin Halbhydrat, Smp.: 200-201°C
- 23.) 2-Amino-4-(di-n-propylamino)-6-phenyl-pteridin Trihydrat, Smp.: 177-178°C
- 15 24.) 2-Amino-4-(di-n-propylamino)-6-(4-chlorophenyl)-pteridin Trihydrat, Smp.: 189-192°C (Zersetzung)
- 25.) 2-Amino-4-(di-n-propylamino)-6-(4-methoxyphenyl)-pteridin Hydrat, Smp.: 207-210°C (Zersetzung)
- 20 26.) 2-Amino-4-(di-n-propylamino)-6-(3,4-dimethoxyphenyl)-pteridin Hydrat, Smp.: 158-160°C
- 25 27.) 2-Amino-4-(morpholin-4-yl)-6-phenyl-pteridin Hydrat, Smp.: 224-227°C (Zersetzung)
- 28.) 2-Amino-4-(morpholin-4-yl)-6-(4-chlorophenyl)-pteridin Hydrochlorid Hydrat, Smp.: 252-254°C (Zersetzung)
- 30 29.) 2-Amino-4-(morpholin-4-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-pteridin Hydrochlorid Hydrat, Smp.: 238-240°C (Zersetzung)
- 30.) 2-Amino-4-(morpholin-4-yl)-6-(3,4-dimethoxyphenyl)-pteridin Trihydrat,

Smp.: 218-220°C (Zersetzung)

31.) 2-Amino-4-(piperidin-1-yl)-6-phenyl-pteridin Dihydrat, Smp.: 209-211°C

5 32.) 2-Amino-4-(piperidin-1-yl)-6-(4-chlorophenyl)-pteridin Dihydrat,
Smp.: 245-247°C (Zersetzung)

33.) 2-Amino-4-(piperidin-1-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-pteridin Hydrat,
Smp.: 211-214°C (Zersetzung)

10

34.) 2-Amino-4-(piperidin-1-yl)-6-(3,4-dimethoxyphenyl)-pteridin Hydrochlorid
Dihydrat, Smp.: 238-241°C (Zersetzung)

15

35.) 2-Amino-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-6-phenyl-pteridin Halbhydrat,
Smp.: 245-247°C (Zersetzung)

36.) 2-Amino-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-6-(4-chlorophenyl)-pteridin Halbhydrat,
Smp.: 277-279°C (Zersetzung)

20

37.) 2-Amino-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-pteridin Halbhydrat,
Smp.: 228-230°C (Zersetzung)

38.) 2-Amino-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-6-(3,4-dimethoxyphenyl)-pteridin Dihydrat,
Smp.: 148-151°C (Zersetzung)

25

39.) 2-Amino-4-(pyrrolidin-1-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-pteridin Dihydrat,
Smp.: 243-246°C (Zersetzung)

2-Amino-4-alkylamino-6-(R⁴)-5,6,7,8-tetrahydropteridine

30

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

Eine Lösung von zu reduzierenden Pteridins (3 mmol) in THF (25 ml) wurde mit PtO₂ (0.10 g)/H₂ katalytisch in einer Schüttelapparatur bewegt, bis die Wasserstoffaufnahme

beendet war. Der Katalysator wurde abfiltriert, das Filtrat bis zur Trockne eingeeengt und der Rückstand für mehrere Stunden unter Rühren mit methanolischer HCl behandelt. Die sich bildenden Kristalle wurden abgesaugt, mit Ether gewaschen und im Exsikkator unter Vakuum getrocknet.

5

Auf diese Weise wurden erhalten:

40.) 2-Amino-4-(morpholin-4-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-5,6,7,8-tetrahydropteridin
Hydrochlorid Halbhydrat, Smp.: 219-222°C

10

41.) 2-Amino-4-(morpholin-4-yl)-6-(3,4-dimethoxyphenyl)-5,6,7,8-tetrahydropteridin
Hydrochlorid Hydrat, Smp.: 168°C

15

42.) 2-Amino-4-(morpholin-4-yl)-6-phenyl-5,6,7,8-tetrahydropteridin Dihydrochlorid
Halbhydrat, Smp.: 200-203°C

43.) 2-Amino-4-(piperidin-1-yl)-6-(4-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydropteridin
Trihydrochlorid Hydrat, Smp.: 170°C

20

44.) 2-Amino-4-(piperidin-1-yl)-6-(4-methoxyphenyl)-5,6,7,8-tetrahydropteridin
Trihydrochlorid Hydrat, Smp.: 218-220°C

45.) 2-Amino-4-(piperidin-1-yl)-6-phenyl-5,6,7,8-tetrahydropteridin Dihydrochlorid
Dihydrat, Smp.: 178-182°C

25

46.) 2-Amino-4-(di-n-propylamino)-6-phenyl-5,6,7,8-tetrahydropteridin Trihydrochlorid
Hydrat, Smp.: 115°C

47.) 2-Amino-4-(di-n-propylamino)-6-(4-methoxyphenyl)-5,6,7,8-tetrahydropteridin
Dihydrochlorid Dihydrat, Smp.: 120°C

30

48.) 2-Amino-4-(diethylamino)-6-(4-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydropteridin
Dihydrochlorid Semihydrat, Smp.: 138°C

49.) 2-Amino-4-(cyclohexylmethylamino)-6-(4-chlorophenyl)-5,6,7,8-tetrahydropteridin Dihydrochlorid Hydrat, Smp.: 160°C

Die Hemmung der Aktivität gereinigter Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS) durch Verbindungen der allgemeinen Formel I kann wie folgt bestimmt werden.

Bei diesem Aktivitätsassay wird das bei der Bildung von NO durch gereinigte NOS anfallende Koprodukt L-Citrullin quantitativ erfaßt. Als Substrat der Enzymreaktion wird 3H-radiomarkiertes L-Arginin eingesetzt, das zu 3H-LCitrullin und NO umgesetzt wird. Nach Beendigung der Enzyminkubation wird entstandenes L-Citrullin von unverbrauchtem L-Arginin mittels Ionenaustauschchromatographie aus dem Reaktionsgemisch entfernt; die durch Flüssigkeitsszintillation gemessene 3H-Aktivität entspricht dann der Menge an L-Citrullin, die ein direktes Maß für die Aktivität der NOS ist.

Das Grundmedium für die Durchführung der Enzymreaktion ist TE-Puffer (Triethanolamin, EDTA, pH 7,0).

Das Endvolumen jeder Inkubation beträgt 100 µl. Das Reaktionsgemisch wird erhalten, indem die folgenden 6 Komponenten auf Eis gemischt werden:

1. "REA-Mix" (pH 7,0), der Triethanolamin, Calciumchlorid, Magnesiumchlorid, EDTA, L-Arginin, Calmodulin und Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) enthält;
2. frisch zubereitete Stammlösung von β-Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat, reduzierte Form (NADPH);
3. (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-Biopterin-Dihydrochlorid Stammlösung (BH₄) oder - für Versuche ohne BH₄ - stattdessen TE-Puffer;
4. gereinigte NO-Synthase aus Schweinekleinhirn oder aus Schweineleber;
5. L-[2,3,4,5-³H]-Arginin-Hydrochlorid-Stammlösung (1,52,6 TBq/mmol);
6. zu testende Substanz.

Die finalen Konzentrationen der Komponenten im Inkubationsvolumen von 100 µl sind: Triethanolamin 50 mM, EDTA 0,5 mM, CaCl₂ 226 µM, MgCl₂ 477 µM, L-Arginin 50 µM, Calmodulin 0,5 µM, FAD 5 µM, NADPH 1 mM, BH₄ (wenn zugesetzt) 2 µM, zu testende Substanz 100 µM.

- Nach dem Mischen der Komponenten auf Eis wurde der Reaktionsansatz sofort in einem Wasserbad bei 37°C für 15 Minuten inkubiert. Zur Bestimmung der IC₅₀-Werte wurde in Gegenwart von 5kU/ml Catalase und für 45 Minuten inkubiert. Nach dieser Inkubationszeit wurde die Reaktion durch Zugabe von 900 µl eiskaltem "Stoppuffer" (20 mM Natriumacetat, 2 mM EDTA, pH 5,5) abgestoppt und der Ansatz (Gesamtvolumen jetzt 1,0 ml) auf Eis gestellt. Zur Abtrennung des nicht umgesetzten 3H-L-Arginins wurde das Gemisch auf eine Ionenaustauschersäule mit 0,8 ml Dowex AG 50 WX-8 (100-200 mesh) gegeben, die zuvor mit 2 ml Stoppuffer gespült und äquilibriert wurde. Nach dem Auftragen der Probe wurde die Säule zweimal mit je 1 ml Wasser eluiert. Der Durchlauf der Probe und das Eluat wurden in Szintillationsgefäßen aufgefangen und gereinigt (Gesamtvolumen 3 ml). Zu den 3 ml wässriger Meßlösung wurden 9 ml Szintillator-Lösung gegeben und die homogene Mischung wurde in einem Flüssigszintillationszähler Tricarb 2500 TR (Packard) 1 Minute pro Probe gemessen. Die mit der zu testenden Substanz gefundene Aktivität wurde in Prozent der Aktivität der Kontrolle angegeben. Jede Substanz wurde in einer Konzentration von 100 µM in Anwesenheit von 2 µM Tetrahydrobiopterin auf antagonistische Wirkung sowie in Abwesenheit von Tetrahydrobiopterin auf agonistische Wirkung auf die NOS getestet.
- Alle Inkubationen wurden in Triplikaten angesetzt. Jeder Versuch wurde dreimal mit verschiedenen Enzympräparationen wiederholt. Einige Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1

	Beispiel	Restaktivität (% of V _{max})	IC ₅₀ (µM)
25	11	92±11	-
	12	15±7	75
	13	13± 4	74
	15	75± 3	-
	16	42±10	-
30	17	2± 0.1	45
	18	23±4	-
	19	0± 0.05	3
	20	0	3,5
	21	0± 0.05	5
35	22	0	2
	23	77±16	-
	24	7±4	-

Tabelle 1 (Fortsetzung)

	Beispiel	Restaktivität (% of V_{max})	IC_{50} (μM)
	25	25 ± 12	-
	26	0	39
5	27	41 ± 8	82
	28	$3 \pm 1,5$	-
	29	$5 \pm 0,1$	34
	30	5 ± 3	-
	31	$0 \pm 0,05$	62
10	32	3 ± 1	-
	33	$7 \pm 0,2$	50
	34	0	44
	35	83 ± 1	-
	36	64 ± 9	-
15	37	84 ± 5	-
	38	99 ± 16	-
	39	30 ± 5	-
	40	66 ± 14	-
	41	68 ± 11	-
20	42	51 ± 3	-
	43	0	13
	44	0	42
	45	0	6
	46	$8 \pm 0,05$	-
25	47	0	34
	48	0	8
	49	0	5

Ferner wurden die relativen Selektivitäten der Antipterin-Hemmstoffe auf die drei bekannten humanen NOS-Isoformen gemessen. Dabei wurden die IC_{50} -Werte für NOS-II/NOS-I und NOS-III/NOS-I gebildet (vergl. Tabelle 2).

Die Daten zeigen, daß die Substanzen für die Hemmung von NOS-I eine erhöhte Selektivität gegenüber NOS-II und eine erhöhte Selektivität gegenüber NOS-III aufweisen.

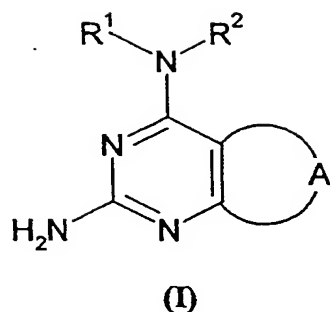
Tabelle 2

Substanz Beispiel	NOS Isoform	Aktivität (% von Kontrolle)	IC ₅₀ (μ M)	Verhältnis NOS-II/I	Verhältnis NOS-III/I
21	NOS-I	27 \pm 1	18.7	21.3	5.3
	NOS-II	81 \pm 6	400 ^a		
	NOS-III	68 \pm 2	100		
45	NOS-I	0 \pm 0	22.0	3.7	0.6
	NOS-II	50 \pm 2	81.5		
	NOS-III	11 \pm 1	14.2		
46	NOS-I	1 \pm 0,1	18,7	10.7	2.9
	NOS-II	68 \pm 1	200 ^a		
	NOS-III	27 \pm 0,2	53.4		
47	NOS-I	0 \pm 0,1	7,4	33.8	8.6
	NOS-II	78 \pm 0,4	250 ^a		
	NOS-III	31 \pm 3	63,6		
48	NOS-I	2 \pm 0	41.5	7.2	1.1
	NOS-II	74 \pm 4	300 ^a		
	NOS-III	27 \pm 1	45.4		
49	NOS-I	0 \pm 0,1	4,9	40.8	7.3
	NOS-II	78 \pm 6	200 ^a		
	NOS-III	18 \pm 1	36		

5 ^a Bis zu 300 μ M keine vollständige Enzymhemmung (IC₅₀ Werte extrapoliert).

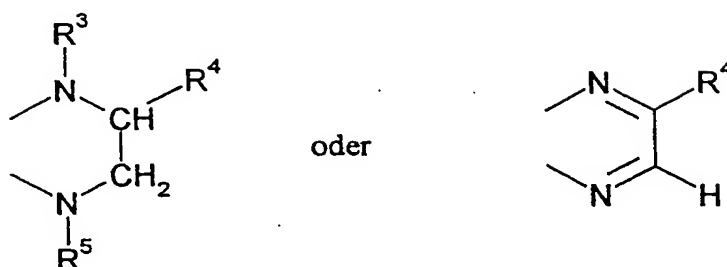
Patentansprüche:

1. Verbindungen der Formel I



in der

10 A für eine Verbrückung der Form



steht

15 R¹ für Wasserstoff, Alkyl, Alkenyl, Alkynyl, Cycloalkyl, Cycloalkenyl, Cycloalkylalkyl, Aryl, Alkylaryl oder Arylalkyl steht, wobei die organischen Reste durch einen oder mehrere Substituenten substituiert sein können,

20 R² unabhängig von R¹ für Alkyl, Alkenyl, Alkynyl, Cycloalkyl, Cycloalkenyl, Cycloalkylalkyl, Aryl oder Alkylaryl oder Arylalkyl steht, wobei die organischen Reste durch einen oder mehrere Substituenten substituiert sein können,

R¹ und R², zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 3-8 gliedrigen Ring bilden können, der wahlweise 0, 1 oder 2 weitere Heteroatome aus der Reihe N, O,

S enthalten kann, und der gegebenenfalls mit einem oder mehreren Resten substituiert ist,

R³ für Wasserstoff, -CO-Alkyl, -CO-Alkylaryl oder -CO-Aryl steht,

R⁴ für Alkyl, Alkenyl, Alkinyl, Cycloalkyl, Cycloalkenyl, Cycloalkylalkyl, Aryl oder Alkylaryl, Arylalkyl, -CO-O-Alkyl, -CO-O-Aryl, -CO-Alkyl -CO-Aryl steht, wobei die organischen Reste durch einen oder mehrere Substituenten substituiert sein können,

R⁵ unabhängig von R³ für Wasserstoff, -CO-Alkyl, -CO-Alkylaryl oder -CO-Aryl steht,

R⁶ für -F, -OH, -O-(C₁-C₁₀)-Alkyl, -O-Phenyl, -O-CO-(C₁-C₁₀)-Alkyl, -O-CO-Aryl, -NR⁸R⁹, Oxo, Phenyl, -CO-(C₁-C₅)-Alkyl, -CF₃, -CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C₁-C₅)-Alkyl, -CO-O-Aryl, -S(O)_n-(C₁-C₅)-Alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹ steht,

R⁷ unabhängig von R⁶ eine der Bedeutungen von R⁶ hat,

R⁸ für Wasserstoff oder Alkyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Alkyl oder Aryl steht,

in allen ihren stereoisomeren und tautomeren Formen und Mischungen davon in allen Verhältnissen, und ihre physiologisch verträglichen Salze, Hydrate, und Ester.

2. Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1, worin

R¹ für Wasserstoff, (C₁-C₁₀)-Alkyl, (C₃-C₈)-Cycloalkyl, Cycloalkylalkyl, Aryl oder (C₁-C₃)-Alkylaryl oder Arylalkyl steht, wobei die Alkylreste durch einen oder mehrere Substituenten R⁶ substituiert sein können,

R² unabhängig von R¹ für (C₁-C₁₀)-Alkyl, (C₃-C₈)-Cycloalkyl, Cycloalkylalkyl, Aryl oder (C₁-C₃)-Alkylaryl steht, wobei die Alkyl-reste durch einen oder mehrere Substituenten R⁶ substituiert sein können,

5 R¹ und R², zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 3-8 gliedrigen Ring bilden können, der wahlweise 0, 1 oder 2 weitere Heteroatome aus der Reihe N, O, S enthalten kann und der gegebenenfalls mit ein oder mehreren Resten R⁶ substituiert ist,

R³ für Wasserstoff, -CO-(C₁-C₇)-Alkyl, -CO-(C₁-C₃)-Alkylaryl oder -CO-Aryl steht,

10

R⁴ für (C₁-C₁₀)-Alkyl, Aryl oder (C₁-C₃)-Alkylaryl, -CO-O-(C₁-C₅)-Alkyl, -CO-O-Aryl, -CO-(C₁-C₅)-Alkyl oder -CO-Aryl steht, wobei die Alkylreste durch einen oder mehrere Substituenten R⁷ substituiert sein können,

15 R⁵ unabhängig von R³ eine der Bedeutungen von R³ hat,

R⁶ für -F, -OH, -O-(C₁-C₁₀)-Alkyl, -O-Phenyl, -O-CO-(C₁-C₁₀)-Alkyl, -O-CO-Aryl, -NR⁸R⁹, Oxo, Phenyl, -CO-(C₁-C₅)-Alkyl, -CF₃, -CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C₁-C₅)-Alkyl, -CO-O-Aryl, -S(O)_n-(C₁-C₅)-Alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹ steht,

20

R⁷ unabhängig von R⁶ eine der Bedeutungen von R⁶ hat,

R⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₅)-Alkyl steht,

25 R⁹ für Wasserstoff, (C₁-C₅)-Alkyl oder Phenyl steht,

Aryl für Phenyl, Naphtyl oder Heteroaryl steht, die alle durch einen oder mehrere gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Reihe Halogen, (C₁-C₅)-Alkyl, Phenyl, -OH, -O-(C₁-C₅)-Alkyl, (C₁-C₂)-Alkylendioxy, -NR⁸R⁹, -NO₂, -CO-(C₁-C₅)-Alkyl, -CF₃, -CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C₁-C₅)-Alkyl, -S(O)_n-(C₁-C₅)-Alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹ substituiert sein können,

30

Heteroaryl für einen 5- bis 7-gliedrigen ungesättigten Heterocyclus steht, der ein oder mehrerer Heteroatome aus der Reihe O, N, S enthält,

n für 0, 1 oder 2 steht,

in allen ihren stereoisomeren und tautomeren Formen und Mischungen davon in allen
5 Verhältnissen und ihre physiologisch verträglichen Salze, Hydrate und Ester.

3. Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1, worin

10 R^1 für Wasserstoff, (C_2-C_4) -Alkyl, das durch einen oder mehrere Substituenten R^6 substituiert sein kann oder (C_1-C_2) -Alkylaryl,

) R^2 für (C_2-C_4) -Alkyl, das durch einen oder mehrere Substituenten R^6 substituiert sein kann, Cyclohexylmethyl oder (C_1-C_2) -Alkylaryl steht,

15 oder R^1 und R^2 zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-7-gliedrigen Ring bilden, der wahlweise kein oder ein weiteres Heteroatom aus der Reihe N, O, S enthält,

R^3 für Wasserstoff, $-CO-(C_1-C_3)$ -Alkyl oder $-CO$ -Aryl,

20 R^4 für Aryl, (C_1-C_5) -Alkyl oder $-CO-O$ -Aryl, die jeweils durch einen oder mehrere Substituenten R^7 substituiert sein können,

) R^5 für Wasserstoff,

25 R^6 für $-OH$, $-O-(C_1-C_3)$ -Alkyl, $-NR^8R^9$ oder $-COOH$,

R^7 für $-OH$, (C_1-C_{10}) -Alkyloxy, Phenoxy oder Oxo,

30 Aryl für Phenyl, Thiophenyl, Furyl oder Pyridyl, die durch einen oder mehrere Substituenten aus der Reihe (C_1-C_3) -Alkyl, Halogen, (C_1-C_3) -Alkyloxy und (C_1-C_2) -Alkylendioxy substituiert sein können, steht, und

R^8 und R^9 die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben,

in allen ihren stereoisomeren und tautomeren Formen und Mischungen davon in allen Verhältnissen und ihre physiologisch verträglichen Salze, Hydrate und Ester.

4. Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1, worin

R^1 für Arylmethyl und

R^2 für Arylmethyl oder Cyclohexylmethyl steht

oder R^1 und R^2 zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen Pyrrolidin-, Piperidin-, Morpholin-, Dimethylmorpholin-, Thiomorpholin, oder N-(C₁-C₂)-Alkylpiperazin-Ring bilden,

R^3 für Wasserstoff,

R^4 für Aryl oder 1,2-Dihydroxypropyl,

R^5 für Wasserstoff

R^6 für -OH, -O-(C₁-C₃)-Alkyl, -NR⁸R⁹ oder -COOH,

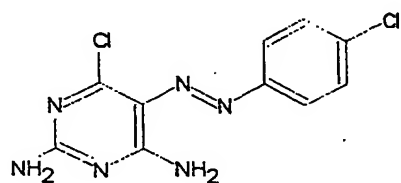
R^7 für -OH, Decyloxy und Phenoxy,

Aryl für Phenyl, das durch einen oder mehrere Substituenten aus der Reihe (C₁-C₃)-Alkyl, Halogen und (C₁-C₃)-Alkyloxy und (C₁-C₂)-Alkylendioxy substituiert sein kann, steht, und

R⁸ und R⁹ die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben,

in allen ihren stereoisomeren und tautomeren Formen und Mischungen davon in allen Verhältnissen und ihre physiologisch verträglichen Salze, Hydrate und Ester.

5. Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1, die Tetrahydropteridine sind, worin R^4 für Aryl, (C_1-C_5) -Alkyl oder $-CO-O$ -Aryl, die jeweils durch einen oder mehrere Substituenten R^7 substituiert sein können, steht.
6. Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1, die Pteridine sind, worin R^1 und R^2 Alkyl und/oder Aryl sind oder worin R^1 Wasserstoff und R^2 Cycloalkyl oder Cycloalkylalkyl bedeuten, und worin R^4 für Aryl, (C_1-C_5) -Alkyl oder $-CO-O$ -Aryl, die jeweils durch einen oder mehrere Substituenten R^7 substituiert sein können, steht.
7. Arzneimittel enthaltend eine Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 neben den üblichen Hilfs- und Zusatzstoffen und gegebenenfalls weiteren Wirkstoffen.
8. Arzneimittel nach Anspruch 7 zur Therapie und Prophylaxe von Schlaganfällen, pathologischen Blutdruckabfällen, insbesondere beim septischen Schock und bei der Krebstherapie mit Cytokinen, Colitis Ulcerosa, Transplantatabstoßungsreaktionen, Nephritiden, Reperfusionsschäden, Infarkt-schäden, Kardiomyopathie, Morbus Alzheimer, Epilepsie, Migräne und Neuritiden unterschiedlicher Ätiogenese.
9. Arzneimittel nach Anspruch 7 als Hemmstoff der NO-Synthase.
10. Verwendung des Arzneimittels nach Anspruch 9 für diagnostische Zwecke.
11. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1, indem man
- eine Verbindung der Formel II



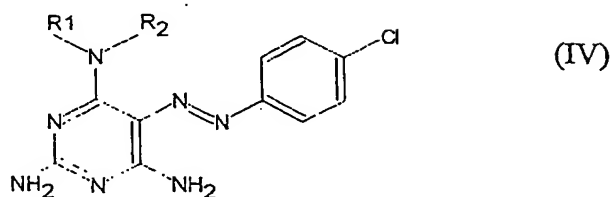
(II)

mit einer Verbindung der Formel III

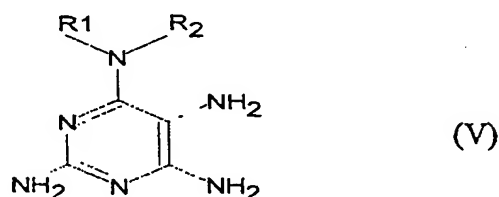


(III)

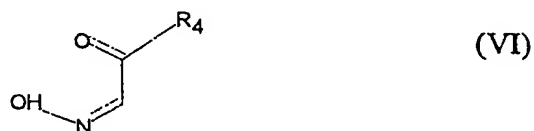
zu einer Verbindung der Formel IV



umsetzt und diese durch katalytische Hydrierung in eine Verbindung der Formel V

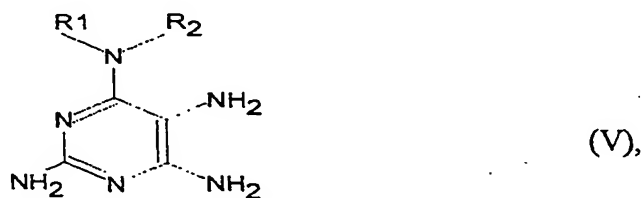


überführt, welche mit einer Verbindung der Formel VI



20 zu einer Verbindung der Formel I umgesetzt wird, welche durch geeignete Derivatisierung, bevorzugt Acylierung, in die gewünschte Verbindung der Formel I oder deren physiologisch verträglichen Salze, Hydrate, Ester und Addukte überführt werden kann, und worin die Substituenten die in den Ansprüchen 1 bis 3 genannten Bedeutungen haben.

25 12. Verbindungen der Formel V

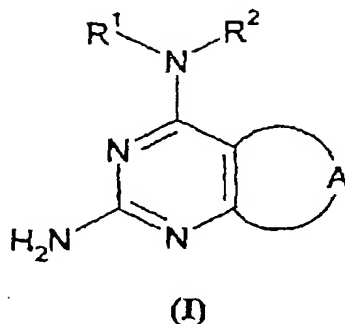


worin R¹ und R² die in Anspruch 1 definierte Bedeutung besitzen.

TRANSLATION OF THE
Annexes (amended sheets) to the Preliminary Examination Report

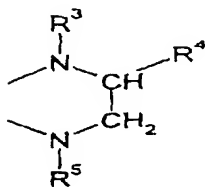
Patent Claims filed with letter of September 14, 2001

1. Compounds of the formula I

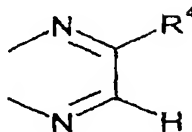


in which

A is a bridge of the formula



or



R^1 is hydrogen, C_1 - C_{20} -alkyl, C_2 - C_{20} -alkenyl, C_2 - C_{20} -alkynyl, cycloalkyl with three to eight ring carbon atoms, cycloalkenyl with three to eight ring carbon atoms, cycloalkylalkyl with five to six ring carbon atoms, aryl, alkylaryl or arylalkyl, where the organic radicals may be substituted by one or more substituents R^6 ,

R^2 is, independently of R^1 , C_1 - C_{20} -alkyl, C_2 - C_{20} -alkenyl, C_2 - C_{20} -alkynyl, cycloalkyl with three to eight ring carbon atoms, cycloalkenyl with three to eight ring carbon atoms, cycloalkylalkyl with five to six ring carbon atoms, aryl, alkylaryl or arylalkyl, where the organic radicals may be substituted by one or more substituents R^6 ,

R¹ and R² may, together with the nitrogen atom bearing them,
form a 3-8-membered ring which may optionally contain 0,
1 or 2 further heteroatoms from the series N, O, S and
5 which is optionally substituted by one or more radicals,

R³ is hydrogen, -CO-alkyl, -CO-alkylaryl or -CO-aryl,

10 R⁴ is C₁-C₂₀-alkyl, C₂-C₂₀-alkenyl, C₂-C₂₀-alkynyl, cycloalkyl
with three to eight ring carbon atoms, cycloalkenyl with
three to eight ring carbon atoms, cycloalkylalkyl with
five to six ring carbon atoms, aryl or alkylaryl,
arylalkyl, -CO-O-alkyl, -CO-O-aryl, -CO-alkyl -CO-aryl,
15 where the organic radicals may be substituted by one or
more substituents R⁷,

R⁵ is, independently of R³, hydrogen, -CO-alkyl,
-CO-alkylaryl or -CO-aryl,

20 R⁶ is -F, -OH, -O-(C₁-C₁₀)-alkyl, -O-phenyl, -O-CO-(C₁-C₁₀)-
alkyl, -O-CO-aryl, -NR⁸R⁹, oxo, phenyl, -CO-(C₁-C₅)-
alkyl, -CF₃, -CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C₁-C₅)-alkyl, -
CO-O-aryl, -S(O)_n-(C₁-C₅)-alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹,

25 R⁷ has, independently of R⁶, one of the meanings of R⁶,

R⁸ is hydrogen or C₁-C₂₀-alkyl,

R⁹ is hydrogen, C₁-C₂₀-alkyl or aryl,

30

in all its stereoisomeric and tautomeric forms and mixtures
thereof in all ratios, and its physiologically acceptable
salts, hydrates and esters.

35 2. Compounds of the formula I as claimed in claim 1, in which

R¹ is hydrogen, (C₁-C₁₀)-alkyl, (C₃-C₈)-cycloalkyl, cycloalkylalkyl, aryl or (C₁-C₃)-alkylaryl or arylalkyl, where the alkyl radicals may be substituted by one or more substituents R⁶,

R² is, independently of R¹, (C₁-C₁₀)-alkyl, (C₃-C₈)-cycloalkyl, cycloalkylalkyl, aryl or (C₁-C₃)-alkylaryl, where the alkyl radicals may be substituted by one or more substituents R⁶,

R¹ and R² may, together with the nitrogen atom bearing them, form a 3-8-membered ring which may optionally contain 0, 1 or 2 further heteroatoms from the series N, O, S and which is optionally substituted by one or more R⁶ radicals,

R³ is hydrogen, -CO-(C₁-C₇)-alkyl, -CO-(C₁-C₃)-alkylaryl or -CO-aryl,

R⁴ is (C₁-C₁₀)-alkyl, aryl or (C₁-C₃)-alkylaryl, -CO-O-(C₁-C₅)-alkyl, -CO-O-aryl, -CO-(C₁-C₅)-alkyl or -CO-aryl, where the alkyl radicals may be substituted by one or more substituents R⁷,

R⁵ has, independently of R³, one of the meanings of R³,

R⁶ is -F, -OH, -O-(C₁-C₁₀)-alkyl, -O-phenyl, -O-CO-(C₁-C₁₀)-alkyl, -O-CO-aryl, -NR⁸R⁹, oxo, phenyl, -CO-(C₁-C₅)-alkyl, -CF₃, -CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C₁-C₅)-alkyl, -CO-O-aryl, -S(O)_n-(C₁-C₅)-alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹,

R⁷ has, independently of R⁶, one of the meanings of R⁶,

R⁸ is hydrogen or (C₁-C₅)-alkyl,

R⁹ is hydrogen, (C₁-C₅)-alkyl or phenyl,

aryl is phenyl, naphthyl or heteroaryl, all of which may be substituted by one or more identical or different substituents from the series halogen, (C₁-C₅)-alkyl or phenyl, -OH, -O-(C₁-C₅)-alkyl, (C₁-C₂)-alkylenedioxy, -N⁸R⁹, -NO₂, -CO-(C₁-C₅)-alkyl, -CF₃, -CN, -CONR⁸R⁹, -COOH, -CO-O-(C₁-C₅)-alkyl, -S(O)_n-(C₁-C₅)-alkyl, -SO₂-NR⁸R⁹,

heteroaryl is a 5- to 7-membered unsaturated heterocycle which contains one or more heteroatoms from the series O, N, S,

n is 0, 1 or 2,

in all its stereoisomeric and tautomeric forms and mixtures thereof in all ratios and its physiologically acceptable salts, hydrates and esters.

3. Compound of the formula I as claimed in claim 1, in which

R¹ is hydrogen, (C₂-C₄)-alkyl which may be substituted by one or more substituents R⁶, or (C₁-C₂)-alkylaryl,

R² is (C₂-C₄)-alkyl which may be substituted by one or more substituents R⁶, or cyclohexylmethyl or (C₁-C₂)-alkylaryl,

or R¹ and R² form, together with the nitrogen atom bearing them, a 5-7-membered ring which optionally contains no or another heteroatom from the series N, O, S,

R³ is hydrogen, -CO-(C₁-C₃)-alkyl or -CO-aryl,

R⁴ is aryl, (C₁-C₅)-alkyl or -CO-O-aryl, each of which may be substituted by one or more substituents R⁷,

R⁵ is hydrogen,

R⁶ is -OH, -O-(C₁-C₃)-alkyl, -NR⁸R⁹ or -COOH,

R⁷ is -OH, (C₁-C₁₀)-alkyloxy, phenoxy or oxo,

5

aryl is phenyl, thienyl, furyl or pyridyl, each of which may be substituted by one or more substituents from the series (C₁-C₃)-alkyl, halogen, (C₁-C₃)-alkyloxy and (C₁-C₂)-alkylenedioxy, and

10

R⁸ and R⁹ have the meanings stated in claim 1,

in all its stereoisomeric and tautomeric forms and mixtures thereof in all ratios and its physiologically acceptable salts, hydrates and esters.

15

4. Compounds of the formula I as claimed in claim 1, in which

R¹ is arylmethyl and

20

R² is arylmethyl or cyclohexylmethyl,

or R¹ and R² form, together with the nitrogen atom bearing them, a pyrrolidine, piperidine, morpholine,

25 dimethylmorpholine, thiomorpholine, or N-(C₁-C₂)-alkylpiperazine ring,

R³ is hydrogen,

30 R⁴ is alkyl or 1,2-dihydroxypropyl,

R⁵ is hydrogen,

R⁶ is -OH, -O-(C₁-C₃)-alkyl, -NR⁸R⁹ or -COOH,

35

R⁷ is -OH, decyloxy and phenoxy,

aryl is phenyl which may be substituted by one or more substituents from the series (C₁-C₃)-alkyl, halogen and (C₁-C₃)-alkyloxy and (C₁-C₂)-alkylenedioxy, and

5 R⁸ and R⁹ have the meanings stated in claim 1,

in all its stereoisomeric and tautomeric forms and mixtures thereof in all ratios and its physiologically acceptable salts, hydrates and esters.

10

5. Compounds of the formula I as claimed in claim 1, which is a tetrahydropteridine in which R⁴ is aryl, (C₁-C₅)-alkyl or -CO-O-aryl, each of which may be substituted by one or more substituents R⁷.

15

6. Compounds of the formula I as claimed in claim 1, which is a pteridine in which R¹ and R² are alkyl and/or aryl, or in which R¹ is hydrogen and R² is cycloalkyl or cycloalkylalkyl, and in which R⁴ is aryl, (C₁-C₅)-alkyl or -CO-O-aryl, each of
20 which may be substituted by one or more substituents R⁷.

7. A pharmaceutical comprising a compound of the formula I as claimed in claim 1 in addition to conventional excipients and additives and optionally further active ingredients.

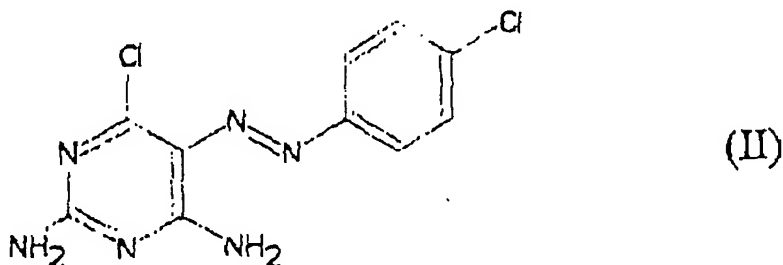
25

8. A pharmaceutical as claimed in claim 7 for the therapy and prophylaxis of strokes, pathological falls in blood pressure, in particular in septic shock and in cancer therapy with cytokines, ulcerative colitis, transplant rejection
30 reactions, nephritis, reperfusion damage, infarct damage, cardiomyopathy, Alzheimer's disease, epilepsy, migraine and neuritis of varying etiogenesis.

9. A pharmaceutical as claimed in claim 7 as inhibitor of NO
35 synthase.

10. The use of the pharmaceutical as claimed in claim 9 for diagnostic purposes.

11. A process for preparing a compound of the formula I as
5 claimed in claim 1, by reacting a compound of the formula II

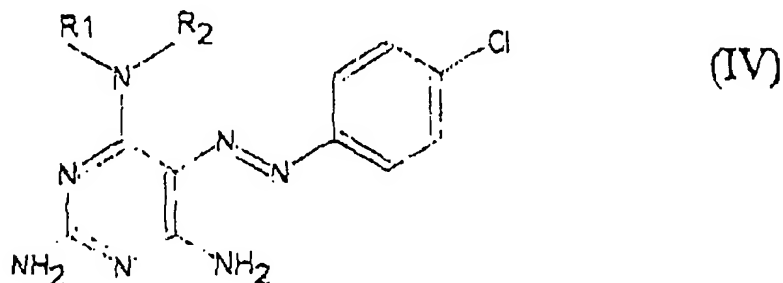


with a compound of the formula III

10

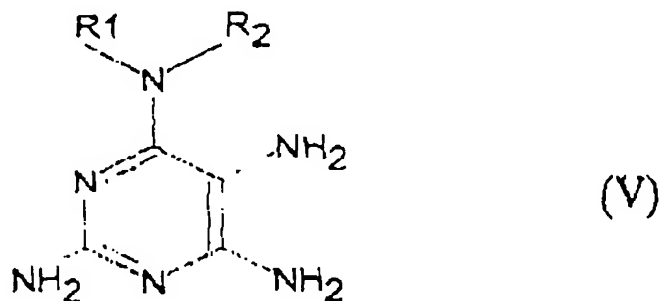


to give a compound of the formula IV



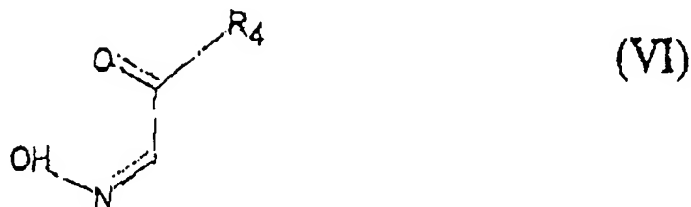
15

and converting the latter by catalytic hydrogenation into a compound of the formula V



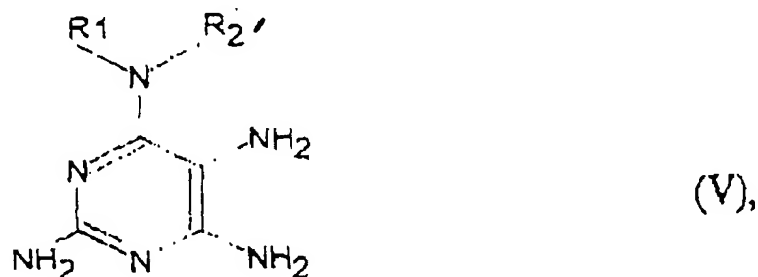
20

which is reacted with a compound of the formula VI



to give a compound of the formula I, which can be converted by suitable derivatization, preferably acylation, into the desired compound of the formula I or its physiologically acceptable salts, hydrates, esters and adducts, and in which the substituents have the meanings stated in claims 1 to 3.

12. A compound of the formula V



in which R^1 has the meaning defined in claim 1, and $R^{2'}$ is, independently of R^1 , C_1 - C_{20} -alkyl, C_2 - C_{20} -alkenyl, C_2 - C_{20} -alkynyl, cycloalkyl with three to eight ring carbon atoms, cycloalkenyl with three to eight ring carbon atoms, [or] cycloalkylalkyl with five to six ring carbon atoms, aryl, alkylaryl or arylalkyl, [where the organic radicals may be substituted by one or more substituents R^6]

R^1 and $R^{2'}$ may, together with the nitrogen atom bearing them, form a 3-8-membered ring [which may] optionally contain 0, 1 or 2 further heteroatoms from the series N, O, S and [which is] optionally substituted by one or more radicals R^6 , and

R^6 has the meaning defined in claim 1.